



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PATOLOGIA CLÍNICA DE GATAS COM TUMORES MAMÁRIOS SUBMETIDAS A
QUIMIOTERAPIA COM DOXORRUBICINA

DANIELA SHARON DE SOUZA NUNES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Brás

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

ORIENTADOR

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

CO-ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PATOLOGIA CLÍNICA DE GATAS COM TUMORES MAMÁRIOS SUBMETIDAS A
QUIMIOTERAPIA COM DOXORRUBICINA

DANIELA SHARON DE SOUZA NUNES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Brás

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

ORIENTADOR

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

CO-ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2014

LISBOA

*Para os meus pais, Jovito e Cristina,
e para o meu irmão, Gabriel.*

*Para o meu avô Jovito,
Cujo sonho era ter um médico na família.*

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus por me acompanhar ao longo de todo este percurso e tornar possível a realização deste meu sonho de infância.

Agradeço aos meus pais, Jovito Nunes e M^a Cristina Nunes, ao meu irmão, Gabriel Nunes e a todos os restantes familiares por todo o apoio, orações, força, paciência e ajuda, despendidas ao longo de todo o curso de Medicina Veterinária.

Ao meu namorado, José Serrano, por acreditar em mim, incentivando-me a batalhar pelos meus sonhos.

Agradeço em especial ao Professor Doutor Jorge de Jesus Correia, que durante o período de elaboração desta dissertação mostrou-se sempre disponível e dedicado a ajudar, sendo um exímio orientador.

Agradeço particularmente ao meu co-orientador de estágio, o Dr. Gonçalo Eduardo Vitor Vicente, pela idealização e desenvolvimento deste tema, por todo o apoio nos momentos mais difíceis, pela sua compreensão, tempo despendido em ensinar-me, pelos conhecimentos transmitidos ao longo do período de estágio e orientação.

Um obrigado especial a todo o corpo clínico, enfermeiros, auxiliares e rececionistas do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária por todos os conhecimentos transmitidos ao longo do estágio curricular não esquecendo a amizade e apoio conferido ao longo de todo esse tempo.

Agradeço às minhas colegas e amigas, Carla Alves, Andreia Lopes, Vânia Marques, Margarida Arede, Mariana Couto, Sofia Correia e Catarina Augusto por me terem acompanhado durante o curso, pela entreaajuda em momentos difíceis, por partilharmos tantos momentos de alegrias e por todas as boas recordações que passamos juntas ao longo deste curso as quais ficarão para sempre retidas na minha memória com o maior saudosismo.

Ao meu amigo Miguel Pereira pela prontidão em auxiliar-me sempre que necessário e, acima de tudo, por ser um grande amigo.

Às minhas ex-colegas de trabalho, Maria Alves e Ana Malhadas e à minha grande amiga Sandrine Rebelo por toda a sua amizade e ajuda.

Ao Hugo Moralez pela sua iniciativa e prontidão em ajudar-me sempre que preciso, e pela sua amizade.

Aos meus outros amigos e irmãos da igreja que sempre me apoiaram.

Aos meus gatos Nicky e Nico e à minha cadela Lassie por serem uma fonte de inspiração e minha motivação enquanto estudante de Medicina Veterinária.

À Dr.^a Maria João por estar sempre pronta e disponível a auxiliar-me no que fosse preciso.

Ao Doutor Telmo Nunes, por tão prontamente mostrar-se disponível a ajudar-me na parte estatística.

À D. Maria Augusta pela sua amabilidade e constante boa disposição.

PATOLOGIA CLÍNICA DE GATAS COM TUMORES MAMÁRIOS SUBMETIDAS A QUIMIOTERAPIA COM DOXORRUBICINA

Resumo

A maioria das neoplasias mamárias na espécie felina é maligna e muito agressiva, traduzindo-se num elevado poder invasivo e capacidade de metastização. Por conseguinte, tem havido várias tentativas para usar a quimioterapia como adjuvante à cirurgia, de modo a prolongar a sobrevivência destes animais. Todavia, a eficácia desta terapêutica ainda não está completamente estabelecida. Deste modo este estudo tem como objetivo avaliar o benefício da quimioterapia como complemento da cirurgia.

Este estudo retrospectivo incidiu na análise de 46 animais (grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente, $n=32$; grupo 2 - gatas tratadas com cirurgia e quimioterapia com doxorrubicina, $n=14$) com carcinomas mamários, diagnosticados no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UL, tendo sido comparadas as diferenças entre os dois grupos de tratamento no que diz respeito ao tempo de sobrevida e ao intervalo livre de doença. Adicionalmente avaliou-se a influência de alguns fatores no tempo de sobrevida e no intervalo livre de doença das gatas pertencentes ao grupo 2. Foram avaliadas as diferenças entre os dois grupos das variáveis clínicas e histopatológicas, nos dois grupos. Em relação ao tempo de sobrevida, o grupo 1 apresentou um valor de mediana de 292 dias face aos 776 dias pertencentes aos animais do grupo 2 ($p=0,053$). Quanto ao intervalo livre de doença, obtiveram-se os valores de 292 dias e 1199 dias para os grupos 1 e 2, respetivamente ($p=0,200$). Comparando os dois grupos em relação ao tempo de sobrevida, tendo em conta os diversos fatores analisados, não se verificaram diferenças significativas à exceção do subgrupo da raça Europeu Comum ($p=0,022$) e do subgrupo com presença de necrose ($p=0,043$). Relativamente ao intervalo livre de doença, ao comparar os dois grupos, também não se verificaram diferenças significativas exceto no subgrupo de idade < 10 anos ($p=0,025$) e no subgrupo de tumores com ausência de necrose ($p=0,023$). Não foram encontradas outras diferenças significativas quer na avaliação dos diferentes fatores no tempo de sobrevida e no intervalo livre de doença, quer no estudo das variáveis clínicas e histopatológicas. O uso da quimioterapia adjuvante com doxorrubicina apresenta neste estudo um resultado benéfico, necessitando no entanto de investigação adicional, nomeadamente de estudos prospetivos.

Palavras-Chave: Carcinomas mamários felinos, cirurgia, quimioterapia, doxorrubicina, tempo de sobrevida, intervalo livre de doença.

CLINICAL PATHOLOGY IN CATS WITH BREAST TUMORS UNDERGOING CHEMOTHERAPY WITH DOXORUBICIN

Abstract

Most mammary tumors in feline species are malignant and very aggressive, resulting in highly metastatic and invasive tumors. Therefore, various attempts have been made to use adjuvant chemotherapy following surgery in order to prolong the survival of these animals. However, the effectiveness of this treatment is not yet very well established. Hence, this study aims to evaluate the benefit of adjuvant chemotherapy compared to surgery alone.

This retrospective study focused on the analysis of 46 animals (group 1 - cats treated surgically, $n = 32$; group 2 - cats treated with surgery and chemotherapy with doxorubicin, $n = 14$) with breast carcinomas diagnosed in the Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UL, comparing the differences between the two treatment groups regarding survival time and disease-free interval. Additionally, the influence of some factors on survival time and disease-free interval of the cats from group 2 was evaluated. Clinical data and histopathological variables were analysed in the two groups. Group 1 had a median survival time of 292 days compared to 776 days in group 2 ($p=0.053$). Median disease-free interval times for group 1 and 2 were 292 days and 1199 days, respectively ($p=0.200$). Comparing the two groups in relation to survival time, no significant differences were found taking into account the several factors analyzed, except for the subgroup of the European shorthair cats ($p=0.022$) and the subgroup with the presence of necrosis ($p= 0.043$). Regarding disease-free interval, when comparing the two groups, there were no significant differences except in the subgroup of age <10 years ($p=0.025$) and in the subgroup of tumors with absence of necrosis ($p=0.023$). No other significant differences were found in the analysis, neither for the survival times and disease-free interval nor in the clinical and histopathological variables. The use of adjuvant chemotherapy with doxorubicin in this study shows a benefic result, however it requires further investigation, including prospective studies.

Keywords: Feline mammary carcinomas, surgery, chemotherapy, doxorubicin, survival time, disease-free interval.

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice de tabelas.....	ix
Índice de figuras	xi
Índice de gráficos.....	xiii
Índice de abreviaturas e de símbolos.....	xv
I. Relatório das atividades de estágio.....	1
II. Revisão bibliográfica – Tumores mamários na espécie felina	5
1. Introdução	5
2. Breves noções respeitantes à anatomia da glândula mamária	5
3. Epidemiologia das neoplasias mamárias na espécie felina	6
3.1. Incidência.....	6
3.2. Fatores de risco	7
3.3. Tumores benignos <i>versus</i> malignos	15
4. Apresentação clínica dos tumores mamários em felinos	15
4.1. Carcinoma inflamatório	16
5. Diagnóstico de tumor mamário.....	17
5.1. Diagnóstico clínico	17
5.2. Diagnóstico citológico.....	21
5.3. Diagnóstico histopatológico.....	23
6. Tratamento.....	25
6.1. Cirurgia	26
6.2. Quimioterapia.....	28
6.3. Eletroquimioterapia	34
6.4. Radioterapia.....	36
6.5. Imunoterapia	37
6.6. Hormonoterapia	38
6.7. Terapêuticas adjuvantes não citotóxicas	39
6.8. Maneio da dor e terapias de suporte	39
7. Prognóstico	41
III. Estudo da patologia clínica de gatas com tumores mamários submetidas a quimioterapia com doxorrubicina	47
1. Objetivos	47
2. Material e Métodos.....	47
2.1. Abordagem	47
2.2. Critérios de inclusão.....	48
2.3. Análise estatística	49
3. Resultados	49
3.1. Variáveis clínicas	49
3.2. Características tumorais.....	52
3.3. Tratamentos.....	54
3.4. Resultados clínicos	54
4. Discussão	66
5. Conclusão	71
IV. Bibliografia	72
V. Anexos.....	80

Índice de tabelas

Tabela 1. Estadiamento dos tumores mamários felinos	21
Tabela 2. Classificação histológica de tumores mamários do gato, definida pela OMS	25
Tabela 3. Estatística descritiva da variável clínica: idade	50
Tabela 4. Distribuição da população quanto às variáveis clínicas	51
Tabela 5. Análise dos tumores mamários das gatas quanto as suas características	53
Tabela 6. Análise da relação entre a extensão da cirurgia e recidiva do tumor mamário no grupo 1 (gatas tratadas cirurgicamente).....	55
Tabela 7. Análise da relação entre a extensão da cirurgia e recidiva do tumor mamário no grupo 2 (gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia)	55
Tabela 8. Análise do efeito de diversos fatores no tempo de sobrevida de gatas com tumores mamários, pertencentes ao grupo 2 (gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia)	59

Índice de figuras

Figura 1. Árvore de decisão terapêutica nos tumores da glândula mamária felinos	26
---	----

Índice de gráficos

Gráfico 1. Estado reprodutivo dos animais em que surgiu tumor mamário.....	50
Gráfico 2. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais do grupo 1 e do grupo 2.....	60
Gráfico 3. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o intervalo livre de doença dos animais do grupo 1 e do grupo 2	61
Gráfico 4. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo túbulo-papilífero, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2.....	63
Gráfico 5. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo cribriforme, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2	64
Gráfico 6. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo sólido, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2.....	65

Índice de abreviaturas e de símbolos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AgNORs – Regiões Organizadoras Nucleolares Argirofílicas

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

ARN – Ácido Ribonucleico

BCG – Bacilo Calmette-Guérin

CDK – Cinases ciclina-dependentes

COX-2 – Ciclooxygenase-2

E-caderina – Epitelial-caderina

EGF-R – Epidermal growth factor receptor (Recetor do fator de crescimento epidérmico)

FeLV – Vírus da Leucemia felina

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

GH – Growth hormone (Hormona de crescimento)

HER2/neu (ErbB2) – Human epidermal growth factor receptor - type 2 (Recetor do fator de crescimento epidérmico humano – tipo 2)

IC (95%) – Intervalo de confiança (95%)

IGF-I - Insulin-like growth factor-I (Fator I de crescimento semelhante à insulina)

IV – Intravenoso

Kg - Quilograma

M – Metastização à distância (Sistema de classificação TNM)

N – Linfonodos regionais (Sistema de classificação TNM)

N= – Número de casos

ng – nanograma

OMS – Organização Mundial de Saúde

OVH – Ovariohisterectomia

PAAF– Punção Aspirativa com Agulha Fina

PCNA – Proliferating Cell Nuclear Antigen (Antigénio Nuclear de Proliferação Celular)

PRL-R – Prolactine Receptor (Recetor de Prolactina)

PTEN – Phosphatase and Tensin homolog (Proteína homóloga da fosfatase e tensina)

RE – Recetor de estrogénio

RP – Recetor de progesterona

T – Tamanho da neoplasia primária (Sistema de classificação TNM)

TGF – Tumoral Growth Factor (Fator de crescimento tumoral)

TNM – Tumor-Nodo-Metástase (Sistema de classificação TNM)

UL – Universidade de Lisboa

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de crescimento do endotélio vascular)

VSSO – Veterinary Society of Surgical Oncology

I. Relatório das atividades de estágio

Ao longo do estágio curricular foi-me dada a oportunidade de contactar com casos reais de animais que foram trazidos pelos seus donos à consulta no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, de modo a adquirir um conjunto de atitudes, conhecimentos e aptidões ajustadas à prestação de cuidados de saúde nesse ambiente. Desempenhei, assim, atividades no Hospital de pequenos animais, pelo que este relatório tem como objetivo uma breve exposição do ocorrido nessas atividades.

O estágio curricular decorreu no período de 1 de Março a 30 de Agosto de 2012, durante o qual desenvolvi atividades ao longo de 1438 horas, aproximadamente, distribuídas pelos seguintes setores: Medicina Interna (444 horas), Cirurgia (320 horas), Imagiologia (224 horas) e Internamento (450 horas). Os três primeiros foram efetuados em turnos rotativos de 8 horas enquanto que as atividades desenvolvidas na área do Internamento, foram realizadas em turnos de 24 horas, com o auxílio de enfermeiros/auxiliares veterinários e a supervisão de um médico veterinário assistente responsável.

Medicina Interna

Durante a minha estadia neste setor prestei assistência aos médicos veterinários de serviço realizando diversas atividades entre as quais iniciar consultas externas, realizando a história pregressa e o exame físico, sendo que este era posteriormente verificado pelo médico veterinário assistente.

Seguidamente eram discutidos com o médico veterinário assistente os diagnósticos diferenciais, os exames complementares a realizar e a terapêutica a instituir.

Neste setor tive a oportunidade de aprender e desempenhar as seguintes tarefas: colheita de sangue, colocação de cateteres endovenosos, administração de vacinas e outros fármacos, realização e interpretação de testes rápidos de diagnóstico, preparação de sistemas de soro, realização de citologias auriculares, execução de raspagens cutâneas e tricogramas, realização de esfregaços, realização de punções aspirativas com agulha fina (PAAF) e prescrição de receitas médicas.

Neste serviço tive ainda a oportunidade de observar e aprender a lidar com os proprietários dos pacientes, permitindo assim o desenvolvimento de técnicas comunicativas, aprender como abordar determinados assuntos e situações mais complicadas, nomeadamente situações de eutanásia, contenção de custos, transmissão de determinados diagnósticos, entre outras.

Durante o estágio, para além de consultas de primeira opinião, assisti também a consultas de referência nas áreas de dermatologia, oftalmologia, endocrinologia, ortopedia, neurologia e oncologia.

As consultas mais frequentemente observadas foram as de rotina (vacinação e desparasitação), insuficiência renal crónica, casos de neoplasias, gastroenterites, fraturas ósseas, leishmaniose, otites, dermatites, otohematomas e tosse do canil.

Também assisti a alguns casos de urgência e cuidados intensivos, tendo inclusivamente ajudado na triagem de alguns desses mesmos pacientes.

Entre os casos de urgência, os mais frequentes eram casos de animais traumatizados, em paragem cardiorrespiratória, com estado convulsivo e dispneicos. Nestas situações auxiliei o médico assistente em algumas tarefas tais como a entubação, preparação e administração de fármacos, técnicas de reanimação e disponibilização de uma via endovenosa aberta.

Cirurgia

No âmbito da cirurgia, inicialmente os animais eram recebidos e pesados, sendo seguidamente submetidos a uma analgesia pré-cirúrgica.

Neste setor desempenhei o papel de ajudante de cirurgião em algumas vezes, noutras o papel de circulante ou anestesista.

Nesta área auxiliei na anestesia, na monitorização do animal, bem como no seu transporte até à sala de preparação cirúrgica, onde, juntamente com outros estagiários e/ou alunos desempenhei algumas destas funções, sendo as mesmas sempre distribuídas por todos os presentes: a cateterização dos animais, preparação do sistema de soro, entubação endotraqueal seguida da sua acoplação ao sistema de anestesia volátil, preparação e administração de anti-inflamatórios e antibióticos, tricotomia da área cirúrgica seguida da sua lavagem e desinfeção.

Quando me coube o papel de anestesista procedi à monitorização do paciente, a cada 5 minutos, observando a coloração das mucosas, o tempo de repleção capilar, as frequências cardíaca e respiratória, a caracterização dos estadios anestésicos e no fim da cirurgia, a monitorização da temperatura do paciente, tomando, se necessário, as medidas adequadas para a sua normalização.

Aquando na posição de circulante, auxiliei o cirurgião e o ajudante de cirurgião na sua preparação e disponibilizei o material cirúrgico necessário.

Enquanto ajudante de cirurgião, procurei auxiliar o cirurgião da melhor forma possível, limpando o campo a fim de expor determinados órgãos e estruturas, na compressão de tecidos com pequenas hemorragias, e, sempre que me era dada essa oportunidade e privilégio, suturei alguns dos animais. Em algumas cirurgias como, castrações de gatos e

destartarizações, foi-me concedida a oportunidade de executá-las, sempre com a supervisão do cirurgião responsável. No final da cirurgia, sempre que necessário, procedi a realização de pensos, acompanhando, o animal no seu pós-operatório através da monitorização dos sinais vitais, remoção do tubo endotraqueal e administração de medicação para o manejo da dor. Auxiliei ainda na realização das fichas pós-operatórias dos pacientes, sempre de acordo com o indicado pelo médico-cirurgião assistente. Nestas fichas constavam os cuidados pós-operatórios e o plano de medicação.

Ainda no setor da cirurgia assisti a consultas pós-cirúrgicas dos animais, procedendo à realização de pensos e remoção dos pontos de sutura.

Imagiologia

No setor de Imagiologia foi-me dada a oportunidade de observar e participar em vários tipos de métodos de diagnóstico imagiológico: radiologia, tomografia axial computadorizada e ecografia.

Na radiologia ajudei no posicionamento e contenção do animal, na revelação das cassetes e quando necessário, no controlo da anestesia e monitorização das frequências cardíaca e respiratória dos animais. Depois de obtidas as imagens radiográficas, estas eram discutidas com o médico veterinário de serviço na imagiologia.

Na tomografia axial computadorizada procedi à cateterização dos animais, contenção dos mesmos, indução e controlo da anestesia e monitorização dos sinais vitais, acompanhamento dos animais até ao internamento e, após o seu recobro, entrega dos mesmos aos seus donos.

Na ecografia, ajudei maioritariamente na contenção dos animais, discutindo posteriormente os resultados observados nesse exame.

Internamento

Na área do Internamento as tarefas consistiram no manejo dos animais, desde a sua monitorização, preparação e administração de medicamentos, alimentação dos mesmos, higienização das jaulas e caixas de areia nos gatos, passeio dos animais no exterior, colocação de cateteres, recolha, preparação e envio de amostras para análise laboratorial, realização de testes rápidos de diagnóstico, montagem e manutenção de sistemas de soros, receção de urgências e cuidados de suporte mais específicos quando necessários.

A monitorização dos animais consistia em avaliar a coloração das mucosas, o tempo de repleção capilar, as frequências respiratória e cardíaca, a temperatura e o pulso, sendo

todos estes parâmetros avaliados três vezes por dia. Adicionalmente eram registados dados importantes, nomeadamente, a presença de vômito, normofagia e normodipsia, a frequência de defecação e de micção, e qualquer alteração digna de registo nas mesmas.

Realizei ainda o trabalho que foi aceite para apresentação em painel, intitulado: Nunes, D., Vicente, G., Soares, M., Nunes, T. e Correia, J. (2014) – Patologia clínica de gatas com tumores mamários submetidas a quimioterapia com doxorubicina. “VI Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, Ciências Veterinárias: Praxis e o Futuro”, INIAV, Oeiras, 3-4 de Abril (Anexo 10).

II. Revisão bibliográfica – Tumores mamários na espécie felina

1. Introdução

Nos últimos tempos tem havido um crescente número de estudos respeitantes aos tumores mamários felinos. Estes têm vindo a adquirir cada vez mais importância quer devido às suas semelhanças com os tumores da mama na mulher, quer pela elevada frequência com que surgem na prática clínica, aliada à importância dada pelos donos aos seus animais de estimação, exigindo assim cuidados de saúde semelhantes aos prestados aos pacientes humanos (Peleteiro, 1994). Estes estudos têm interesse no âmbito da patologia comparada e, uma vez que, a nível histológico as neoplasias mamárias da gata são bastante similares às da mulher, apresentando também um comportamento biológico semelhante, torna-se passível a utilização destes tumores como modelos para a espécie humana. Desta feita os tumores mamários felinos têm vindo a ser utilizados como modelos patológicos e terapêuticos para o estudo dos tumores da mama na mulher (Peleteiro, 1994; Hahn, Bravo, & Avenell, 1994). Mais descobertas têm sido feitas no domínio da patogenia e da histogénese destes tumores, particularmente no que diz respeito aos marcadores de recetores hormonais, com especial importância para a expressão do gene HER2 como fator de prognóstico (Peleteiro, 1994; Rasotto, Caliarì, Castagnaro, Zanetti, & Zappulli, 2011). Os fatores de prognóstico para os tumores mamários na mulher e na gata apresentam várias semelhanças (Misdorp, 2002).

2. Breves noções respeitantes à anatomia da glândula mamária

Na gata as glândulas mamárias estão dispostas em duas cadeias bilaterais simétricas separadas pela linha branca, e que se estendem desde o tórax ventral até à região inguinal. Esta espécie possui quatro pares de glândulas mamárias, designando-se estas, no sentido cranial para o caudal: torácicas, abdominais anteriores, abdominais posteriores, inguinais ou primeiras, segundas, terceiras e quartas, respetivamente (Peleteiro, 1994).

Todas as glândulas mamárias possuem o mesmo tipo de organização estrutural, sendo assim constituídas por lóbulos, separados através de septos conjuntivos, cujos ductos drenam para ductos lactíferos, sendo estes canais excretores de maior calibre. Por sua vez, estes últimos abrem, em número variável, de forma direta e independente no mamilo.

Contudo, antes de chegar ao mamilo, estes ductos dão lugar a uma dilatação ampolar, o seio lactífero (Peleteiro, 1994).

Os tecidos mamários estão sujeitos a influência hormonal, ocorrendo mudanças significativas a nível macro e microscópico nestes tecidos no decorrer das diferentes fases do ciclo éstrico (Giménez, Hecht, Craig, & Legendre, 2010). Quanto à drenagem linfática, normalmente esta não cruza a linha média, ou seja, não permite a comunicação entre as cadeias direita e esquerda, no entanto põe em contacto algumas glândulas homolaterais. É de ressaltar ainda que, nesta espécie, a circulação linfática da cadeia mamária faz-se de modo independente no que diz respeito às duas glândulas anteriores e às duas posteriores. Existem ainda anastomoses entre os vasos linfáticos das glândulas torácicas e abdominais anteriores homolaterais, sendo que a sua drenagem é feita para os linfonodos do centro linfático axilar propriamente dito. Também existem anastomoses a nível da rede linfática das glândulas abdominais posteriores e das inguinais, drenando estas para os linfonodos do centro linfático inguinal superficial (Peleteiro, 1994).

3. Epidemiologia das neoplasias mamárias na espécie felina

3.1. Incidência

As neoplasias mamárias são o terceiro tumor mais frequente na espécie felina, sendo menos comuns que os linfomas e os tumores cutâneos. Os tumores mamários representam cerca de 12% de todos os tumores nos gatos e, apesar de poderem afetar ambos os géneros, surgem com mais frequência nas gatas, nas quais representam cerca de 17% de todas as suas neoplasias (Dorn, Taylor, Schneider, Hibbard & Klauber, 1968). Nos gatos, estes tumores são raros (Dorn *et al.*, 1968), surgindo numa frequência de apenas 1% a 5% (Viste, Myers, Singh, & Simko, 2002; Weijer, Head, Misdorp, & Hampe, 1972). A taxa de incidência anual destas neoplasias foi estimada em 12,8 por cada 100 000 gatos (machos e fêmeas) e 25,4 por cada 100 000 gatas (Dorn *et al.*, 1968). No entanto, segundo Peleteiro (1994), estes dados são pouco seguros uma vez que é difícil identificar o conjunto da população felina em estudo.

3.2. Fatores de risco

Existem vários fatores, determinantes de doença, associados a um aumento do risco de ocorrência de tumores mamários na espécie felina, tais como: idade, raça, influências hormonais (Sorenmo, Worley, & Goldschmidt, 2013), fatores genéticos, dieta e agentes virais (Misdorp, 2002).

3.2.1. Idade

As neoplasias da glândula mamária surgem predominantemente em animais de meia-idade a idosos, numa idade média de 10 a 12 anos de idade, no entanto, afetam animais com idades compreendidas entre os 9 meses e os 23 anos (Argyle *et al.*, 2008). Nos machos, a idade média relatada ao diagnóstico de neoplasia mamária é de 12,8 anos, sendo esta ligeiramente mais tardia que a das fêmeas (Skorupski *et al.*, 2005).

O risco aumenta com a idade, contudo apenas é significativo a partir dos 7 a 9 anos, sendo que continua a aumentar até aos 12 a 14 anos (Dorn *et al.*, 1968). É de realçar que algumas displasias mamárias podem ocorrer ainda antes do primeiro ano de idade, nomeadamente a hiperplasia fibroadenomatosa mamária felina também denominada de alteração fibroadenomatosa/ hipertrofia mamária felina/ hipertrofia fibroepitelial. Esta displasia geralmente ocorre em gatas jovens e inteiras, aquando da puberdade ou durante o primeiro ciclo éstrico, podendo ainda surgir durante a gestação ou pseudogestação (Hayden, Barnes, & Johnson, 1989), ou ainda em fêmeas ou machos tratados com progestagénios sintéticos, como o acetato de megestrol e a medroxiprogesterona, para o controle reprodutivo, tratamento de alterações de comportamento e em certas dermatopatias (Misdorp, 1991).

3.2.2. Raça

Os tumores mamários podem surgir em qualquer raça, contudo os siameses apresentam um maior risco de incidência destes tumores (Argyle *et al.*, 2008). O risco de desenvolvimento de tumores mamários nesta raça pode ser duas vezes maior do que nas outras (Hayes, Milne, & Mandell, 1981).

Nos siameses esta patologia parece ocorrer mais precocemente, verificando-se como idade média de aparecimento os 9 anos de idade, o que vem reforçar a ideia de uma predisposição genética nesta raça. Esta predisposição racial pode estar associada ao facto dessa raça apresentar um risco elevado para vários tipos de tumores e não só tumores mamários, devido a alterações germinativas na suscetibilidade dos genes em relação aos

tumores ou devido a uma deficiente função dos genes supressores de tumores (Withrow et al., 2013).

Segundo outros autores, numa população felina, normalmente não se sabe ao certo qual a proporção entre as diferentes raças, pelo que torna-se difícil afirmar que há predisposição de determinada raça (Peleteiro, 1994).

3.2.3. Fatores genéticos

Na sua maioria, as neoplasias surgem como fruto da ativação anormal dos genes que controlam o crescimento das células, ou são o resultado de alguma mutação, havendo em ambos os casos modificações progressivas da biologia celular. Estas modificações caracterizam-se por alterações na proliferação, diferenciação e na interação celular com o meio extracelular. Os proto-oncogenes, os genes supressores dos tumores e os genes responsáveis pelo controle da apoptose são os principais alvos das alterações genéticas. Os genes responsáveis pela reparação do ADN também têm um papel importante na carcinogénese, tendo em conta que qualquer alteração a nível desses genes conduz a alterações no genoma com subsequente transformação neoplásica. Os proto-oncogenes são genes que codificam as proteínas que regulam o crescimento e a diferenciação celular. Caso ocorra alguma mutação ou haja um descontrolo da expressão genética estes proto-oncogenes são transformados em oncogenes, culminando esta alteração na síntese de oncoproteínas. Por sua vez, tanto os oncogenes como os seus produtos podem levar ao aumento da expressão dos genes das ciclinas e das cinases ciclina-dependentes (CDK), responsáveis pela progressão ordenada das células nas diferentes fases do ciclo celular. As mutações que de alguma forma, descontrolem a atividade das ciclinas e das CDK favorecem a proliferação celular (Da Silva, Serakides & Cassali, 2004).

Em medicina humana, os tipos de alterações genéticas registadas nos tumores mamários abrangem a amplificação do oncogene, mutações pontuais, inativação de genes supressores de tumores e translocações. Certos oncogenes codificam fatores de crescimento e os seus recetores promovendo, assim, o crescimento celular nas células normais. Contudo, este crescimento pode tornar-se descontrolado caso haja amplificação ou sobre-expressão destes oncogenes. Alguns deles causam o aumento da transformação celular (TGF-alfa) ou levam ao seu crescimento pela sua sobre-expressão (EGF, HER2) ou por mutação (p53) (Miador, 2002). No cancro da mama humano, por exemplo, a amplificação dos oncogenes *myc* e *neu* ocorre com frequência (Minke, Schuurin, *et al.*, 1991). A amplificação do oncogene *HER2/neu* resulta na sobre-expressão do HER2, visto que a amplificação genómica está associada a um aumento da expressão do ARN mensageiro e da oncoproteína resultante (Kaya, Ragazzini, Aribal, Güney, & Kotiloglu, 2001; Millanta, Calandrella, Citi, Santa, & Poli, 2005). O HER2 (também designado c-erbB-2) é o

recetor para o fator de crescimento epidérmico humano de tipo II. Esta glicoproteína transmembranária pertence à família dos recetores ativadores de tirosinas cinases, família EGFR (recetor do fator de crescimento epidérmico), da qual também faz parte o EGF-R, os quais desempenham papéis importantes na regulação do ciclo celular bem como na sua diferenciação e portanto no desenvolvimento cancerígeno (Minke, Schuuring, *et al.*, 1991; Suo *et al.*, 2002; Selvarajan, Bay, Chng, & Tan, 2004; Soares, Correia, Carvalho & Ferreira, 2012). Nos humanos, a sua sobre-expressão está relacionada com o tipo de tumor mamário humano mais agressivo, o HER2 positivo (HER2+) (Soares *et al.*, 2012). Segundo Soares *et al.* (2013), estudos recentes têm vindo a demonstrar uma forte associação entre a sobre-expressão do oncogene homólogo felino HER2 (*fHER2*) e a carcinogenese mamária, surgindo assim a hipótese da existência de tumores mamários *fHER2+* na gata, semelhantes aos do subtipo HER2+ da mulher. Em um estudo realizado por Millanta, Calandrella, Citi, *et al.* (2005) a expressão deste oncogene surgiu aumentada em tumores malignos, sendo que, em 47 carcinomas mamários analisados, 28, isto é, 59,6%, apresentavam sobre-expressão deste oncogene. Contudo, recentemente num estudo com 73 carcinomas mamários felinos, 10 adenomas e 73 lesões mamárias hiperplásicas ou displásicas, a sobre-expressão do *fHER2* foi detetada em apenas 4 das 73 neoplasias malignas, ou seja, em apenas 5,5%, não apresentando correlação com a classificação histológica nem com o resultado clínico pós-operatório de um ano. Cinco das 73 lesões hiperplásicas ou displásicas (6,8%) e 1 dos 10 adenomas mamários (10%) também eram *fHER2* positivos (Rasotto *et al.*, 2011). Deste modo, este autor pôs a hipótese de que estes resultados sugerirem que o *fHER2* pode não desempenhar um papel tão preponderante na carcinogenese mamária e no prognóstico em gatos como acontece em pacientes humanos. Outros autores, como Soares *et al.* (2012) sugerem que a discrepância a nível dos resultados obtidos, pode dever-se aos diferentes protocolos utilizados na deteção da proteína *fHER2*. No seu estudo, no qual procedeu à otimização das técnicas de deteção, Soares *et al.* (2013) constatou que 33% de casos de tumores mamários felinos apresentaram sobre-expressão do *fHER2*. No entanto, não foi observada a amplificação do gene *fHER2* (Soares *et al.*, 2013).

No que diz respeito ao EGF-R, num estudo procedeu-se ao isolamento de duas linhas de células epiteliais, sendo que a sua amplificação foi encontrada somente no ADN em elevado número de passagens numa das duas linhas celulares do carcinoma mamário felino, não sendo detetado no ADN dessa mesma linha celular, em baixo número de passagens nem no ADN do tumor original. Nesse mesmo estudo não foram encontrados rearranjos ou amplificações dos oncogenes *c-myc* e *c-erbB2* no carcinoma mamário felino primário, nem nas duas linhas celulares dele derivadas (Minke, Schuuring, *et al.*, 1991).

Do grupo dos genes supressores tumorais fazem parte os que regulam a transcrição nuclear e o ciclo celular (como o p53), os que regulam a transdução de sinais e os recetores de superfície celular (recetores do TGF- β e caderinas) (Da Silva, Serakides & Cassali, 2004).

O gene *p53* é responsável pela produção de uma proteína que regula a proliferação celular, exercendo assim um efeito supressor de tumor. A sua mutação parece estar associada ao desenvolvimento e/ou progressão de neoplasias mamárias (Allred *et al.*, 1993). Num estudo efetuado 13,7% (10/73) dos carcinomas mamários felinos analisados expressaram p53, havendo uma correlação positiva entre Ki-67 (uma proteína nuclear associada à proliferação celular) e a expressão desse gene. Por outro lado, no presente estudo todos os adenomas mamários e as lesões hiperplásicas e displásicas bem como o tecido mamário normal apresentaram-se sempre negativos ao p53 (Rasotto *et al.*, 2011).

Está comprovado que há uma proteína, a E-caderina, que tem uma ação supressora de invasão (Mareel, Vleminckx, Vermeulen, Bracke, & Van Roy, 1992), verificando-se num estudo que a expressão destas moléculas estava bastante diminuída nos tumores mamários malignos comparativamente com a sua expressão no tecido mamário normal, lesões displásicas, hiperplásicas e neoplasias benignas (Zappulli *et al.*, 2012). Todavia a invasão, bem como o crescimento de células cancerígenas, também podem ser influenciados por outros fatores de crescimento no estroma (Misdorp, 2002).

O gene *RON* e o seu homólogo felino, *f-stk*, pertencem à família de recetores da tirosina cinase, MET. Nos carcinomas da mama na mulher, tem-se verificado a sobre-expressão do gene *RON*, sendo que, vários estudos sugerem que os membros dessa família estão envolvidos no aparecimento e progressão de tumores. Na espécie felina, o gene *stk* foi identificado e têm sido efetuados estudos relacionados com a sua expressão nos tumores mamários das gatas. Num estudo relativamente recente, o gene *stk* foi expresso a um elevado nível, tendo sido detetada a sua presença em 7 dentre 8 carcinomas mamários felinos, bem como em metástases (De Maria *et al.*, 2002).

Estudos citogenéticos podem revelar alterações cromossómicas associadas com a amplificação de oncogenes e / ou deleção de genes supressores (Misdorp, 2002).

No estudo atrás mencionado, no qual foram isoladas e analisadas duas linhas de células epiteliais distintas a partir de um único carcinoma mamário felino com diferente potencial tumorigénico, revelou-se que, em adição aos marcadores de cromossomas exclusivos e característicos em cada uma das linhas celulares, ambas apresentaram vários marcadores de cromossomas em comum. Estes dados sugerem que as duas linhas surgiram a partir de um único ancestral celular hipotético do qual divergiram durante a progressão tumoral (Minke, Schuurin, *et al.*, 1991).

Num estudo foi analisado o ADN de lesões mamárias felinas quer primárias, quer metastáticas, nomeadamente de 9 lesões benignas e 111 lesões mamárias malignas. Todas as lesões benignas, exceto uma, eram diploides enquanto que 46,3% dos carcinomas

mamários primários pareciam ser aneuploides. Entre os tumores aneuploides, a hipoploidia mostrou-se relativamente frequente. A aneuploidia não foi correlacionada com nenhum tipo de tumor, nem com o seu grau histológico de malignidade, tamanho ou invasão vascular (Minke *et al.*, 1990). O facto da hipoploidia ter sido encontrada com alguma frequência nos carcinomas mamários felinos pode estar relacionado com a perda de genes supressores e consequentemente o seu efeito protetor (Misdorp, 2002).

3.2.4. Fatores Hormonais

As hormonas ováricas são necessárias para o desenvolvimento e maturação da glândula mamária, sendo que, essas mesmas hormonas, bem como as hormonas de crescimento, exercem os seus efeitos sobre a carcinogénese mamária nos gatos. Existem interações complexas entre hormonas sexuais, hormonas de crescimento e IGF (fator de crescimento insulínico), tais como a produção da hormona do crescimento pela glândula mamária, induzida pela progesterona (Mol *et al.*, 1995; Mol, Garderen, Rutteman, & Rijnberk, 1996).

A exposição aos estrogénios e à progesterona está fortemente ligada à tumorigénese de neoplasias mamárias (Sorenmo *et al.*, 2013). Gatas inteiras e regularmente expostas a estas hormonas têm um maior risco de desenvolvimento de tumores mamários (Argyle *et al.*, 2008). De acordo com Dorn *et al.* (1968), o risco de aparecimento de tumores da mama é sete vezes maior em fêmeas inteiras do que nas castradas à puberdade. Segundo Overley *et al.* (2005), gatas ovariectomizadas antes dos seis meses de idade têm uma redução de 91% de risco de desenvolverem tumores mamários, enquanto que as submetidas a esse procedimento dos sete aos doze meses de idade, ou dos treze aos vinte e quatro meses têm uma redução de 86% e 11%, respetivamente. Não se verificou haver qualquer benefício em realizar este procedimento cirúrgico após os vinte e quatro meses de idade. Conclui-se portanto, que o efeito protetor da ovariectomia diminui rapidamente após os primeiros anos (Overvey, 2005), sendo que a ovariectomia quando realizada precocemente exerce um considerável efeito protetor contra os carcinomas mamários (Misdorp, 2002). Por conseguinte, recomenda-se a castração destes animais antes do primeiro ano de vida (Argyle *et al.*, 2008). De acordo com Overley *et al.* (2005), não há uma associação entre a nuliparidade/multiparidade e o risco de ocorrência de tumores mamários.

Em adição à influência das hormonas ováricas endógenas, o risco de desenvolvimento de neoplasias mamárias pode ser ainda aumentado pela exposição às progestagénios, havendo uma grande associação entre a ocorrência de neoplasias malignas ou benignas em gatas tratadas regularmente com estas substâncias. Gatas tratadas com progestagénios têm um risco relativo de 3,4 de desenvolverem tumores mamários face às que não são submetidas a essas substâncias. É de ressaltar que, nestes casos, os tumores benignos surgem mais frequentemente com um risco relativo de 5,28 em oposição aos tumores

malignos que tem um risco de 2,8 (Misdorp, Romijn, & Hart, 1991; Sorenmo *et al.*, 2013). Estes tumores são raros em machos, no entanto segundo um estudo recente (Skorupski *et al.*, 2005), em 22 casos de gatos machos com tumores mamários, 8 destes, isto é 36%, tinham história de uso de progestagénios. Em outro estudo (Jacobs, Hoppe, Poehlmann, Ferracone, & Sorenmo, 2010), três gatos machos com tumores mamários foram tratados com múltiplas injeções de acetato de medroxiprogesterona, tendo desenvolvido tumores mamários malignos recorrentes e múltiplos, num período de 5 a 6 anos após esses tratamentos. No caso de uma administração irregular de progestagénios ou de um tratamento de curta duração com tais substâncias, a probabilidade de haver o desenvolvimento de tumores mamários malignos é menor (Misdorp *et al.*, 1991), apesar de conduzir a alterações nas glândulas mamárias (Loretti, Da Silva Ilha, Ordás, & De las Mulas, 2005). Segundo Misdorp *et al.* (1991), um tratamento irregular com progestagénios não aumenta o risco de tumores mamários, quer sejam eles benignos ou malignos.

Uma das lesões displásicas que pode ocorrer é a hiperplasia fibroadenomatosa felina (alteração fibroadenomatosa felina/hipertofia mamária felina/hipertofia fibroepitelial), sendo esta a alteração histopatológica mais frequente em gatos tratados com progestagénios durante um curto período de tempo, podendo surgir rapidamente, mesmo após uma única administração. Esta alteração também pode surgir devido a progestagénios aquando da gravidez (Hayden *et al.*, 1989). Com estes estudos, entre outros, tem-se chegado à conclusão que, para haver uma influência destes fármacos no desenvolvimento de tumores mamários malignos, tem de haver uma administração regular e prolongada dos mesmos (Misdorp *et al.*, 1991). De modo geral, pode-se dizer então que a administração destas substâncias não está associada a um surgimento precoce de neoplasias mamárias (Misdorp *et al.*, 1991).

Relativamente à influência hormonal na hiperplasia fibroadenomatosa felina (alteração fibroadenomatosa felina/hipertofia mamária felina/hipertofia fibroepitelial), foi efetuado um estudo sobre a expressão imunohistoquímica dos recetores de progesterona (RPs), da hormona de crescimento (GH) e do fator de crescimento insulínico (IGF-I) em 22 amostras deste tipo de lesão. Em todas as amostras os RPs e a GH apresentavam-se co-localizados no compartimento epitelial, sendo que 14 destes casos co-expressaram também o IGF-I. A expressão de RPs e GH, com ausência de IGF-I, foi detetada nas células epiteliais em 11 casos. No estroma, a maior parte dos casos expressou GH e IGF-I sem expressão de RPs. Constatou-se ainda que 17 da totalidade dos 22 casos (77%) expressaram o IGF-I. Este estudo sugere assim, que há uma estimulação da produção de GH por intermédio da ligação da progesterona ao seu recetor, que por sua vez, exerce de forma direta e indireta, a sua ação proliferativa, através da produção autócrina/parácrina de outros fatores de crescimento, nomeadamente o IGF-I (Ordás, Millán, de los Monteros, Reymundo, & de las Mulas, 2004).

Estes achados vão ao encontro do já que já havia sido descrito anteriormente por outros autores (Mol *et al.*, 1995).

3.2.4.1. Recetores hormonais

Como visto anteriormente, o risco para o desenvolvimento de tumores mamários em gatos é determinado pela exposição precoce a hormonas ováricas, embora o período de latência pareça ser longo, uma vez que a maioria dos gatos já têm uma idade mais avançada quando diagnosticados (Sorenmo *et al.*, 2013).

O tecido mamário normal contém recetores para progesterona (RPs), bem como para estrogénios (REs), em concentrações relativamente altas, o que explica a sua dependência hormonal, como referido anteriormente (Millanta, Calandrella, Bari, *et al.*, 2005). Há vários relatos respeitantes ao papel dos recetores de testosterona, estrogénios e progesterona no desenvolvimento de tumores mamários nos gatos (Henrik, 2010).

A percentagem da expressão de REs / RPs varia entre os estudos, provavelmente devido a diferenças na seleção dos casos, métodos e interpretação dos resultados (Sorenmo *et al.*, 2013), podendo ainda haver falsos positivos devido à presença de vestígios de estruturas glandulares normais ou pequenas áreas displásicas na proximidade dos tumores (De las Mulas *et al.*, 2000).

Apesar da expressão de REs e RPs estar implicada nos estadios iniciais do desenvolvimento de tumores mamários, segundo De las Mulas *et al.* (2000) a maioria dos carcinomas mamários felinos são REs negativos, concluindo ainda este autor, dois anos mais tarde, em outro estudo, que a maioria dos carcinomas mamários felinos são RPs negativos, embora ligeiramente mais do que um terço sejam RPs positivos (De las Mulas *et al.*, 2002). Os tumores mamários benignos, tal como o tecido mamário normal, como acima referido, são maioritariamente positivos para os RPs tendo ainda um elevado número de REs (De las Mulas *et al.*, 2000; Millanta *et al.*, 2005). Deste modo, conclui-se que esta dependência hormonal parece diminuir com a progressão histológica de benigno para maligno (Sorenmo *et al.*, 2013).

Dois anos mais tarde, De las Mulas *et al.* (2002) verificou que nos tumores malignos os grupos mais prevalentes, dentre os tumores hormonodependentes, são os REs-positivo e RPs-positivo e os REs-negativo e RPs-positivo, sendo os REs detetados em metade dos casos que apresentavam RPs. Posteriormente Millanta *et al.* (2005), em um dos seus estudos, ao demonstrar a existência duma menor expressão de REs nos carcinomas invasivos das gatas, concluiu que este seria um indicativo da falta de dependência das neoplasias mamárias desta espécie em relação à ação dos estrogénios. Contudo, muitos dos carcinomas invasivos neste estudo eram REs-negativo e RPs-positivo (27/47; 57.4%), o que não está de acordo com os resultados obtidos anteriormente por De las Mulas *et al.*

(2002). No que diz respeito aos resultados dos RPs também verificou-se alguma discrepância em relação aos resultados de De las Mulas *et al.* (2002). Ao contrário do que se verificou com a expressão dos REs, a expressão dos RPs aumentou significativamente dos tecidos normais e displásicos para as lesões neoplásicas, com valores mais elevados nos carcinomas *in situ*. Nos carcinomas invasivos observou-se uma diminuição dos RPs, todavia ainda apresentavam valores de positividade superiores aos verificados por De las Mulas *et al.* (2002) (63,8% *versus* 38,5%). A hiperplasia fibroadenomatosa felina (alteração fibroadenomatosa felina/hipertofia mamária felina/hipertofia fibroepitelial) também revelou uma elevada expressão de RPs (Millanta, Calandrella, Bari, *et al.*, 2005).

3.2.5. Outros fatores

A ciclo-oxigenase (COX-2) é uma enzima que desempenha um papel na formação de prostaglandinas, as quais podem ser mediadoras em mecanismos inerentes à proliferação celular, apoptose, modulação do sistema imunitário e angiogénese (Grösch, Maier, Schiffmann, & Geisslinger, 2006). A COX-2 expressa-se nos tecidos mamários durante a tumorigénese (Millanta, Citi, Della Santa, Porciani, & Poli, 2006), estando a sua sobre-expressão associada a um pior prognóstico nas gatas (Millanta *et al.*, 2006). Dois estudos reportaram a existência da COX-2 na maior parte das neoplasias mamárias analisadas, sendo que, no estudo feito por Millanta *et al.* (2006), a COX-2 expressou-se em 96% dos carcinomas mamários felinos, não tendo sido encontrada nos tecidos mamários normais, enquanto que, no outro estudo realizado por Sayasith, Sirois e Doré (2009) esta enzima esteve presente em 87% dos carcinomas analisados. A correlação da expressão de COX-2 e a angiogénese abre portas para um papel potencial dos inibidores de COX-2 na prevenção e tratamento de carcinomas mamários invasivos felinos, através de suas propriedades anti-angiogénicas (Millanta *et al.*, 2006).

Fatores nutricionais que exerçam a sua influência numa idade muito precoce, podem ser etiologicamente importantes nos tumores mamários dos gatos, na medida em que, modificam a concentração e disponibilidade das hormonas sexuais. Contudo ainda são necessários mais estudos nesse âmbito (Misdorp, 2002).

Alguns vírus podem estar envolvidos na tumorigénese das neoplasias mamárias. Vários investigadores têm demonstrado a presença de partículas virais nos carcinomas mamários da espécie felina como agentes etiológicos de tumores mamários, incidindo essencialmente sobre o vírus da leucemia felina (FeLV) e o RD-114 (Feldman & Gross, 1971; Weijer, Calafat, Daams, Hageman, & Misdorp, 1974; Misdorp, 2002).

Segundo Misdorp (2002), num estudo realizado por Calafa, Weyer e Daams (1977), antígenos de FeLV foram encontrados em 30,6% dos carcinomas analisados e antígenos de RD-114 foram encontrados em 55,5% desses tumores malignos. No entanto, tanto nos

tecidos glandulares normais como nos das lesões mamárias benignas, não foram encontrados vestígios destes retrovírus.

De acordo com Morris & Dobson (2001), apesar de partículas retrovirais do tipo A e do tipo C terem sido identificadas em carcinomas mamários das gatas, o seu papel na origem destes tumores ainda não foi estabelecido.

3.3. Tumores benignos versus malignos

Na espécie felina, a maioria dos tumores mamários são malignos e muito agressivos (Henrik, 2010). Aproximadamente 80-90% destes tumores são malignos, predominantemente carcinomas, sendo que, os restantes 20-10% são tumores benignos, maioritariamente fibroadenomas (Argyle *et al.*, 2008). Segundo Henry (2010), a percentagem de tumores malignos nesta espécie é de 80-96%.

A maioria destes tumores malignos são adenocarcinomas do tipo tubular, papilar, sólido e cribriforme, e alguns tem zonas compostas por células epiteliais e células mesenquimatosas (tumores mistos) (Argyle *et al.*, 2008). Outros tumores mamários malignos incluem os carcinomas não infiltrativos, carcinomas de células escamosas, carcinomas mucinosos, carcinosarcomas e carcinoma mamário inflamatório (Misdorp *et al.*, 1999; Henry, 2010).

4. Apresentação clínica dos tumores mamários em felinos

Muitas gatas com cancro da mama aparecem normalmente à consulta para avaliação de um nódulo palpável, contudo em outras situações o achado pode ser acidental, ocorrendo durante um exame físico de rotina (Henry, 2010). Um exame cuidadoso das restantes glândulas mamárias é importante na avaliação de uma gata com história prévia de tumores mamários, especialmente se o tratamento consistiu numa mastectomia simples, isto porque o aparecimento de novos tumores primários é comum (Sorenmo *et al.*, 2013).

Como referido anteriormente, dos quatro pares de glândulas mamárias que as gatas possuem, e apesar de qualquer uma das glândulas mamárias poder ser afetada, de acordo com Morris & Dobson (2001), as mamas torácicas são as mais frequentemente acometidas por estes tumores.

As neoplasias mamárias nestes animais são de fácil deteção no exame físico (Sorenmo *et al.*, 2013) e são normalmente facilmente palpáveis como nódulos discretos ou massas presentes nas glândulas mamárias (Morris & Dobson, 2001). Estas massas podem ser únicas ou múltiplas, presentes em uma ou mais glândulas simultaneamente (Henrik, 2010).

Segundo Weijer *et al.* (1972) os tumores múltiplos são comuns nas gatas, quer sejam de diferentes tipos histológicos como do mesmo tipo, embora segundo Henry (2010), os gatos sejam menos propensos a apresentarem simultaneamente lesões benignas e malignas.

A maioria dos tumores apresentam-se como uma massa bem definida e de consistência firme à palpação, no entanto também podem surgir como massas de consistência mais mole, não delimitadas e infiltrativas (Henrik, 2010). Quanto à sua mobilidade sob a pele, os tumores variam podendo ser muito móveis e difíceis de fixar à palpação até chegarem a ter um extenso envolvimento cutâneo ou mesmo muscular (Peleteiro, 1994; Perez-Alenza, Jimenez, Nieto, & Pena, 2004). Estes últimos normalmente fazem-se acompanhar por uma intensa reação inflamatória da pele e correspondem aos carcinomas inflamatórios da mama (Perez-Alenza *et al.*, 2004). O tamanho do(s) tumor(es) no momento do diagnóstico depende da precocidade da deteção e na agressividade do(s) mesmo(s) (Morris & Dobson, 2001; Henrik, 2010), contudo raramente ultrapassam os 8 cm de diâmetro (Peleteiro, 1994). Os tumores de maiores dimensões podem inflamar, infetar e ulcerar (Morris & Dobson, 2001; Henrik, 2010). Segundo Henry (2010) a ulceração de uma lesão é comum e é sugestiva de malignidade. Além da possibilidade de ulcerar, os tipos mais agressivos frequentemente aderem à pele e à parede abdominal (Henrik, 2010), sendo que, a natureza agressiva dos tumores também se reflete na elevada frequência de invasão linfática e metastática a nível dos linfonodos, principalmente dos regionais, e pulmões. Também podem ocorrer metástases para o esqueleto, pele, pleura, fígado, baço, rins e encéfalo (Peleteiro, 1994; Henrik, 2010). Os linfonodos regionais podem ou não estar hipertrofiados (Sorenmo *et al.*, 2013), podendo inclusivamente surgir casos de metastização pulmonar sem que estes pareçam estar afetados. No caso dos sarcomas, a sua metastização faz-se por via sanguínea, pelo que podem acometer diversos órgãos sem que os linfonodos regionais sejam atingidos (Peleteiro, 1994).

Nos tumores com extenso envolvimento pulmonar e carcinomatose pleural com efusão a sintomatologia respiratória é comum (Morris & Dobson, 2001). Os tumores benignos não tem um comportamento invasivo nem metastizam (Morris & Dobson, 2001).

4.1. Carcinoma inflamatório

O termo "carcinoma inflamatório da mama" é a designação amplamente utilizada para descrever um carcinoma mamário que apresenta uma intensa reação inflamatória, estando o mesmo associado a um comportamento particularmente agressivo e de mau prognóstico (Misdorp, 2002; Perez-Alenza *et al.*, 2004). Os carcinomas mamários inflamatórios são raros nos gatos (Sorenmo *et al.*, 2013), contudo foram reportados, três casos na espécie felina (Perez-Alenza *et al.*, 2004).

A nível clínico, o animal apresenta uma súbita sintomatologia que se assemelha a um processo inflamatório exibindo eritema, firmeza e calor na pele da glândula mamária, muitas vezes sem uma massa subjacente. Devido a esta apresentação clínica, muitas vezes esta condição pode ser erroneamente diagnosticada como dermatite ou mastite (Perez-Alenza *et al.*, 2004). O diagnóstico clínico pode ser confirmado patologicamente pela observação de êmbolos neoplásicos nos vasos linfáticos da derme, sendo este o único critério histológico para o diagnóstico patológico, visto que vários tipos histológicos de carcinomas foram descritos como causadores desta condição (Perez-Alenza *et al.*, 2004).

A presença de metástases pulmonares e quistos ováricos com hiperplasia endometrial quística são achados comuns em gatas com carcinoma inflamatório da mama. O carcinoma inflamatório da mama secundário a mastectomia é a única apresentação clínica destes carcinomas observada no gato até agora, sendo associado a inflamação severa da derme e do tecido subcutâneo, o que não ocorre nos cães. Os sinais clínicos mais graves nesta espécie são sinais inflamatórios com edema, ulceração da pele e rejeição da sutura cirúrgica, com nenhum processo de cura completo após a cirurgia (observado em 2 dos 3 casos reportados de carcinoma inflamatório da mama felino). Histologicamente, para além da típica embolização neoplásica dos vasos linfáticos superficiais da derme, também foi encontrado nos 3 casos destes estudo, um infiltrado inflamatório severo composto por grandes quantidades de neutrófilos e outras células inflamatórias. Esta inflamação histologicamente severa não se trata de uma mera resposta inflamatória presente na zona de cicatrização da ferida porque, em 1 dos 3 gatos, o processo de reparação já estava concluído. No caso da espécie felina considera-se então uma reação imunitária antineoplásica específica (Perez-Alenza *et al.*, 2004)

5. Diagnóstico de tumor mamário

5.1. Diagnóstico clínico

Um diagnóstico presuntivo de tumor mamário pode ser feito no exame clínico e aquando da palpação na maioria dos casos (Morris & Dobson, 2001), contudo devem ser tomados cuidados para diferenciar situações de inflamação (mastite), hiperplasias ou quistos de tumores mamários malignos ou benignos (Solano-Gallego, 2010).

O diagnóstico clínico deve iniciar-se e ter como base uma história pregressa o mais minuciosa possível, contendo dados a cerca do animal tais como o sexo, idade, raça e dados respeitantes ao seu comportamento sexual. No que diz respeito a este último aspeto há que ter em conta a regularidade dosaios, a data do último cio, situações de pseudo-

gestação, ocorrência de partos e lactações, administração de progestagênios e caso se trate de uma fêmea, se foi ou não submetida a uma OVH e quando é que a mesma foi efetuada. Quanto à lesão propriamente dita, deve-se ter em atenção informações como a data em que a mesma surgiu, o seu tamanho (que por si só já é um parâmetro bastante significativo a nível de prognóstico), número, consistência, presença ou ausência de ulceração, taxa de crescimento, se é ou não acompanhada de prurido, a localização e sinais de crescimento infiltrativo (fixação à pele / fáscia subjacente). Após a história pregressa tem lugar o exame físico, no qual é imprescindível a palpação de todas as glândulas mamárias. Os mamilos podem ser espremidos, com algum cuidado, para avaliar a presença ou ausência de secreção. Os linfonodos regionais devem ser examinados em busca de sinais de metástases devendo ser então palpados, sendo que, a menos que estejam hipertrofiados, de um modo geral, estes não são detetados (Peleteiro, 1994; Solano-Gallego, 2010; Henrik, 2010). Caso os linfonodos estejam hipertrofiados, especialmente no caso dos axilares, os mesmos devem ser submetidos a uma punção aspirativa com agulha fina (PAAF) antes da cirurgia para decidir se devem ser incluídos ou não na mastectomia (Henrik, 2010).

Tendo em conta que os gatos com tumores mamários tendem a ter uma idade avançada, e uma vez que os tumores nesta espécie são normalmente malignos, é recomendado um plano de trabalho minucioso para avaliar a função geral dos diversos órgãos, de modo a auxiliar a pesquisa de desenvolvimento metastático, determinando assim a evolução da doença (Sorenmo *et al.*, 2013). Este pode incluir hemograma, bioquímicas séricas, radiografia torácica e abdominal, ecografia abdominal, urianálise, PAAF e sua análise citológica e biopsia (Argyle *et al.*, 2008; Solano-Gallego, 2010).

As análises sanguínea e urina, geralmente não são muito úteis no diagnóstico de tumores mamários sendo que, de um modo geral, não contêm achados muito significativos no que diz respeito aos tumores mamários felinos, contudo estas análises geralmente são necessárias para excluir outras doenças concomitantes além de fornecerem informações sobre o estado geral do animal (Henrik, 2010).

O exame radiográfico do tórax é de grande importância para saber quão evoluído se encontra o processo, mesmo que não haja suspeita de metástase pulmonar (Peleteiro, 1994). Segundo Misdorp (2002), no que diz respeito aos tumores mamários malignos, ainda que não sejam detetadas metástases numa primeira apresentação, na maioria dos gatos irão desenvolver-se ou já se desenvolveram micrometastases.

As radiografias torácicas devem conter os planos laterais esquerdo, direito e ventrodorsal (Henrik, 2010). Segundo Moore (2006), nesta espécie é mais frequente a metastização pulmonar do que a metastização regional. Os sinais de metástase podem ser pequenas a grandes opacidades nodulares ou miliares (Henrik). Todavia, em alguns casos podem apresentar alterações intersticiais em lugar das típicas lesões metastáticas nodulares (Argyle *et al.*, 2008). Contudo, a deteção dessas metástases pode ser dificultada no caso de

possuírem uma pequena dimensão (menos de 0,5 cm) ou de se encontrarem encobertas pelo coração ou grandes vasos (Peleteiro, 1994). Além disso, nos pacientes geriátricos são comuns alterações nos pulmões e na pleura, as quais, aliadas às lesões inflamatórias inativas, podem gerar alguma dúvida na avaliação de uma radiografia torácica (Henrik, 2010). Deste modo, a obtenção dum exame radiográfico negativo não é sinónimo de inexistência da generalização do processo (Peleteiro, 1994). Na radiografia torácica, pode ainda visualizar-se linfadenopatia esternal ou brônquica (Henrik, 2010) e efusão pleural, sendo que esta ocorre com relativa frequência nesta espécie (Morris & Dobson, 2001). Nestes casos justifica-se a avaliação citológica do fluido da efusão pleural ou material recolhido por PAAF dos linfonodos hipertrofiados, de modo a pesquisar a presença de células neoplásicas malignas (Henry, 2010; Henrik, 2010). Quanto às radiografias abdominais, estas podem ser valiosas para a deteção de hipertrofia dos linfonodos ilíacos e a ecografia abdominal também pode ajudar na deteção de metástases abdominais, apesar das metástases torácicas serem geralmente as mais comuns (Henrik, 2010).

É imprescindível ter em mente que sinais vagos de doença metastática não devem atrasar o tratamento, devido à natureza agressiva da doença. A elevada taxa de tumores malignos, requer que seja obrigatório proceder a uma abordagem agressiva, alcançando o diagnóstico através do exame histopatológico das massas retiradas na mastectomia. Uma biopsia pré-operatória não é aconselhável e a aspiração com agulha fina seguida de citologia também é raramente recomendada antes da cirurgia, contudo pode ser útil para descartar condições inflamatórias (Henrik, 2010) e lesões cutâneas ou subcutânea de origem não mamária, tais como por exemplo mastocitomas (Henry, 2010).

Como foi já referido, com a análise clínica do tumor mamário pretende-se determinar o estado ou fase de evolução do processo tendo em conta as características da neoplasia mamária e a sua possibilidade de extensão além dos limites do tecido a partir do qual se formou (Peleteiro & Correia, 1993). O sistema TNM (Tumor, Linfonodo e Metástase), proposto pela Organização Mundial de Saúde por Owen em 1980, permite determinar o estado ou fase de evolução do processo neoplásico. Graças a esta classificação é possível estabelecer um diagnóstico e um prognóstico, planejar um tratamento e avaliar os resultados do mesmo, bem como dar indicações precisas ao anatomopatologista sobre o material enviado para análise. Esta classificação apenas se aplica aos carcinomas e no caso de tumores múltiplos, deve ser atribuída uma classificação individual a cada tumor. No que diz respeito à extensão do tumor primitivo (T), esta deve ser avaliada segundo dois parâmetros: o envolvimento dos tecidos vizinhos e a dimensão, considerando-se para o efeito o eixo maior. Os tumores primitivos da mama podem ser classificados de T0 a T4. O grau T0 utiliza-se no caso de «ausência de tumor primitivo evidente» ou, no caso de glândulas mamárias anteriormente submetidas a extirpação cirúrgica de uma neoplasia, «ausência de recidiva evidente». O grau T1 corresponde a um tumor que, numa gata, tenha até 1 cm de

diâmetro e envolvimento cutâneo mínimo. A nível de envolvimento cutâneo os T2 são iguais aos T1 mas diferem nas suas dimensões, indo de 1 a 3 cm nas gatas. Quando já há um extenso envolvimento da pele e fixação das massas tumorais à parede torácica ou abdominal, é atribuída a classificação T4. Este grau indica um processo de gravidade máxima e prognóstico muito reservado, normalmente correspondente aos carcinomas inflamatórios. As categorias de T1 a T3 são ainda subdivididas consoante a fixação do tumor em: a (não está fixo), b (está fixo à pele) ou c (está fixo ao músculo) (Peleteiro, 1994; Peleteiro & Correia, 1993).

No que diz respeito ao envolvimento dos linfonodos regionais (N), sendo eles os axilares e inguinais superficiais, são atribuídas as seguintes designações: N0 (sem envolvimento evidente dos linfonodos regionais), N1 (com envolvimento dos linfonodos homolaterais) e N2 (linfonodos bilaterais envolvidos). As categorias N1 e N2 subdividem-se em a ou b, consoante os linfonodos se apresentem móveis ou fixos, respetivamente. Estas classificações podem ainda ser implementadas com o sinal (+) ou (-) a seguir à classificação da lesão consoante o exame histopatológico confirme ou não o envolvimento dos linfonodos (Peleteiro, 1994; Peleteiro & Correia, 1993).

Relativamente às metástases à distância, o processo pode ser classificado de M0 (sem metástases evidentes), M1 (metástases à distância, incluindo linfonodos não considerados regionais) e MX (impossível avaliar a existência de metástases) (Peleteiro, 1994; Peleteiro & Correia, 1993).

Com base neste sistema, após a classificação de uma neoplasia mamária ou de um conjunto de neoplasias mamárias, no caso de multiplicidade, pode estabelecer-se qual a fase evolutiva ou estadio do processo («stage of disease») (Peleteiro, 1994; Peleteiro & Correia, 1993).

Atualmente é utilizada pela maioria dos oncologistas uma versão modificada do sistema original de estadiamento publicado por Owen (Owen, 1980). Neste sistema de estadiamento os estádios passam de I a II e a III, consoante o tamanho do tumor primário aumente de inferior a 2 cm, a 2 a 3 cm ou no último caso, seja maior que 3 cm (Sorenmo *et al.*, 2013). O estadio III inclui tumores T1 ou T2 com metástases nos linfonodos sendo que não é necessário que existam metástases nos linfonodos dos tumores T3. O estadio IV é um estadio de doença que abrange tumores com quaisquer metástases em linfonodos e com metástases à distância (McNeill *et al.*, 2009) [Tabela 1]. Este sistema de estadiamento não deve ser usado em sarcomas da glândula mamária (Sorenmo *et al.*, 2013).

Caso se trate de uma neoplasia múltipla, a fase a considerar correta é sempre a da neoplasia de categoria T mais elevada e por conseguinte de maior gravidade (Peleteiro & Correia, 1993).

Posteriormente a esta classificação TNM, poderão ser acrescentadas outras indicações respeitantes ao grau de malignidade histológica da neoplasia («grading» ou «histologic

grade»), após a realização do exame histopatológico (Peleteiro, 1994; Peleteiro & Correia, 1993).

Tabela 1. Estadiamento dos tumores mamários felinos

Estadio	T	N	M
I	T ₁	N ₀	M ₀
II	T ₂	N ₀	M ₀
III	T _{1,2}	N ₁	M ₀
	T ₃	N _{0,1}	M ₀
IV	Qualquer T	Qualquer N	M ₁

T, tumor primário; T₁, < 2cm de diâmetro máximo; T₂, 2 - 3 cm de diâmetro máximo; T₃ > 3 cm de diâmetro máximo; N, linfonodo regional; N₀, sem metástases no linfonodo regional (diagnosticadas histologicamente/citologicamente); N₁, com metástases no linfonodo regional (diagnosticadas histologicamente/citologicamente); M, metástases à distância; M₀, sem metástases à distância; M₁ com metástases à distância.

Adaptado de Argyle *et al.*(2008).

5.2. Diagnóstico citológico

O diagnóstico citológico em gatas é um dos diagnósticos mais solicitados a nível laboratorial, devido à elevada frequência da patologia mamária nesta espécie. Adicionalmente a este facto, a acessibilidade às lesões e consequente a sua colheita para análise citológica está facilitada pela punção aspirativa com aulha fina (PAAF). Todavia o diagnóstico das lesões neoplásicas mamárias apresenta várias dificuldades, nomeadamente em relação à obtenção de informações mais detalhadas a cerca das características do processo, como por exemplo a invasão vascular e o grau de infiltração, que este tipo de análise não fornece com o mesmo rigor que a análise histopatológica (Peleteiro & Carvalho, 2011).

Os exames citológicos podem ser feitos a partir de material proveniente das lesões mamárias obtido por aposição, por compressão do teto, analisando-se o fluido que se obtém com este método, ou por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) (Solano-Gallego, 2010). Apesar da citologia ser raramente recomendada antes da cirurgia, pode ser bastante útil (Henrik, 2010). Como referido anteriormente, a PAAF é útil para aceder aos linfonodos regionais e órgãos que são sede de metástases à distância de modo a avaliá-los no que diz respeito a metástases, sendo de igual modo útil na análise das efusões pleurais (Morris & Dobson, 2001; Solano-Gallego, 2010).

Ao proceder-se à avaliação citológica de um esfregaço, os critérios de malignidade a ter em conta baseiam-se em aspetos relacionados com a população celular em geral (se é abundante, se forma placas ou se as células estão dispersas em pano de fundo), com as

células epiteliais (se há marcada anisocariose, mitoses e/ou marcada basofilia do citoplasma), e com o núcleo (marcada anisocariose, deformação do perfil, diversos nucléolos bem visíveis ou macronúcleolos, binucleação ou multinucleação). A aplicação destes critérios de malignidade celular tem de ser feita com uma certa cautela uma vez que, há neoplasias cujo comportamento se sabe que é benigno, atendendo a estudos epidemiológicos realizados num grande número de casos, sem metástases nem recidivas, mas que, no entanto, no exame citológico apresentam-se constituídas por células de grande volume, núcleo proeminente com cromatina de densidade variável, nucléolos evidentes e com moderado grau de anisocariose. Existem, portanto, situações em que a análise citológica revela uma lesão sugestiva de malignidade, sendo que tal não se verifica na evolução clínica. Da mesma forma podem verificar-se situações em que se obtem material nos esfregaços com escassas informações de malignidade, em lesões cuja histopatologia demonstra corresponderem a carcinomas com invasão vascular e fortemente infiltrativos. Em adição a estas situações, e tornando ainda mais complicado o diagnóstico citológico, há que ter presente que estas neoplasias, são frequentemente múltiplas, sendo que cada tumor constitui uma lesão independente das outras, pelo que o diagnóstico deve ser individualizado para cada tumor. Desta feita, não se pode inferir que as características de uma massa aplicam-se às demais. Outro factor que dificulta esta forma de diagnóstico de tumores mamários reside na sua marcada heterogeneidade celular. Enquanto que alguns tumores podem ser simples e constituídos por células secretoras apoiadas em estroma conjuntivo, há outros que podem apresentar, por exemplo, células mioepiteliais e/ou conter ainda uma forte componente inflamatória. Esta, por sua vez, pode ser o resultado de hemorragias locais que estimulam a migração celular e a eritrofagocitose, apresentando assim numerosos macrófagos espumosos, volumosos e com grande quantidade de grânulos de hemossiderina.

De um modo geral, quando o diagnóstico citológico levanta suspeitas de lesão neoplásica, recomenda-se a sua confirmação histopatológica.

A título de fiabilidade da análise citológica como método de diagnóstico, tem sido apontada na literatura, uma grande correlação entre o diagnóstico citológico e o histológico para diferenciar situações de neoplasia de lesão inflamatória. No entanto, no diagnóstico de lesões benignas não se verifica uma correlação tão grande, devido à pequena quantidade de material obtido no aspirado, ou à grande quantidade de líquido nas lesões quísticas, prejudicando assim a fixação e deformando as células, de modo a que a sua interpretação esteja dificultada.

Tendo em conta que a cirurgia é o método de eleição para o tratamento destes tumores, devido à natureza agressiva dos mesmos, recomenda-se que a necessidade de realizar uma análise citológica seja bem ponderada, e apesa de útil não deve ser utilizada como meio de diagnóstico definitivo, em detrimento da histopatologia. A sua utilização pode

inclusivamente limitar-se às situações seguintes: quando a localização da lesão é fora do comum; se há hipertrofia dos linfonodos regionais, devendo estes ser aspirados; nos casos em que há (ou suspeita-se que haja) recidiva; quando há dúvidas a cerca do carácter neoplásico da lesão ou quando se pondera a eutanásia do animal (Peleteiro & Carvalho, 2011).

5.3. Diagnóstico histopatológico

O diagnóstico histopatológico é imprescindível para uma correta avaliação de qualquer lesão suspeita de neoplasia mamária, podendo este incidir sobre um fragmento de biopsia cirúrgica ou sobre o próprio tumor extirpado cirurgicamente. Em medicina veterinária verifica-se predominantemente a última situação referida, visto que o tratamento cirúrgico continua a ser praticamente o único recomendado, excetuando casos particulares em que a cirurgia não está recomendada, como por exemplo, em casos de recidivas neoplásicas em animais de idade avançada, pelo que nestas situações o diagnóstico histopatológico é efetuado com o recurso à biopsia. Nestes casos a biopsia tem o intuito de confirmar se realmente estamos perante uma neoplasia e, dentro do possível, também colher indicações sobre o grau de malignidade a fim de emitir um prognóstico (Peleteiro, 1994).

O exame histopatológico, quer pela biopsia incisional pré-operatória como pela biopsia excisional pós-operatória, é o método de excelência para efetuar o diagnóstico uma vez que permite identificar e classificar o tipo de tumor bem como o seu prognóstico, avaliar o grau de infiltração dos tecidos e vasos envolventes, obter detalhes relativos à histomorfologia tumoral (presença ou ausência de pleomorfismo, grau de diferenciação, índice mitótico, presença ou ausência de necrose) além de permitir avaliar acerca da excisão completa ou incompleta da neoplasia (Misdorp *et al.*, 1999; Misdorp, 2002). O pleomorfismo celular e nuclear (variação no tamanho e forma) pode ser observado quer em neoplasias mamárias malignas quer em benignas, contudo é menos frequente nestas últimas (Misdorp, 2002).

Tal como na recolha de amostras para o exame citológico, no exame histopatológico também é necessário observar alguns cuidados devido à multiplicidade lesional, de modo a evitar diagnósticos incorrectos. O fragmento colhido para biopsia pode não corresponder à zona que apresenta malignidade mais acentuada e deste modo o prognóstico emitido é mais favorável que o real. Não obstante, mesmo que se proceda à recolha de várias amostras de uma ou várias neoplasias retiradas cirurgicamente na íntegra, ainda há a possibilidade, apesar de que menor, de não seleccionar as zonas mais representativas da lesão. É portanto imprescindível retirar amostras provenientes de vários pontos do tumor, as quais devem abranger não só tecido tumoral, como também zonas de transição entre as lesões e os tecidos que não aparentam estar afetados (Peleteiro, 1994) para que as margens sejam avaliadas (Misdorp, 2002). Este procedimento possibilita ao anatomopatologista avaliar o

grau de invasão local e a reação inflamatória envolvente, além de possibilitar a verificação da existência de lesões displásicas da mama, as quais são bastante frequentes simultaneamente a estes tumores (Peleteiro, 1994).

O diagnóstico histopatológico de malignidade pode ser efetuado através da observação de algumas características microscópicas (Misdorp, 2002). Estima-se que a percentagem de tumores mamários malignos diagnosticados erroneamente como benignos através da observação histopatológica seja bastante inferior a 10% nas gatas (Misdorp *et al.*, 1999). Os tumores malignos mamários geralmente têm algum grau de crescimento infiltrativo/destrutivo para os tecidos adjacentes e/ou invasão de vasos sanguíneos e linfáticos, enquanto que, os tumores mamários benignos têm ausência de crescimento invasivo e destrutivo, sendo muitas vezes encapsulados. Contudo há exceções como as lesões de hiperplasia lobular, entre elas a hiperplasia fibroadenomatosa felina (alteração fibroadenomatosa felina/hipertofia mamária felina/hipertofia fibroepitelial) (Misdorp, 2002). A descontinuidade ou ausência das membranas basais também são indicativos de malignidade em tumores mamários (Benazzi, Sarli, Galeotti, & Marcato, 1993). A anaplasia (perda de diferenciação) ocorre mais frequentemente nos tumores mamários malignos do que nos benignos, bem como o pleomorfismo celular e nuclear. A necrose também é mais frequente em neoplasias mamárias malignas do que em benignas (Misdorp, 2002).

Aquando da caracterização histopatológica dos tumores mamários é necessário determinar o grau de malignidade dos mesmos. Para a atribuição do grau de malignidade histológica existem vários esquemas classificativos, sendo que o método mais recente e mais utilizado é o de Elston e Ellis (1998), propondo este uma classificação em três graus (I, II e III). Esta classificação tem como base a avaliação dos seguintes critérios histológicos: a percentagem de formação tubular, o grau de pleomorfismo nuclear e o número de mitoses por campo. A cada um destes critérios é estabelecida uma pontuação que vai de 1 a 3 e ao proceder à soma da totalidade dessa pontuação obtém-se um indicativo do grau de malignidade da neoplasia (Elston & Ellis, 1998).

5.3.1. Classificação histológica dos tumores mamários felinos

Para se proceder a um diagnóstico histopatológico correto é imperativo ter em conta a classificação histológica dos tumores mamários felinos. A classificação histológica a seguir apresentada foi proposta por Misdorp *et al.* (1999), OMS (Organização Mundial de Saúde), sendo esta vulgarmente utilizada pelos patologistas. Esta classificação histológica encontra-se dividida em tumores malignos, benignos e lesões não neoplásicas (hiperplasias e displasias mamárias).

Tabela 2. Classificação histológica de tumores mamários do gato, definida pela OMS

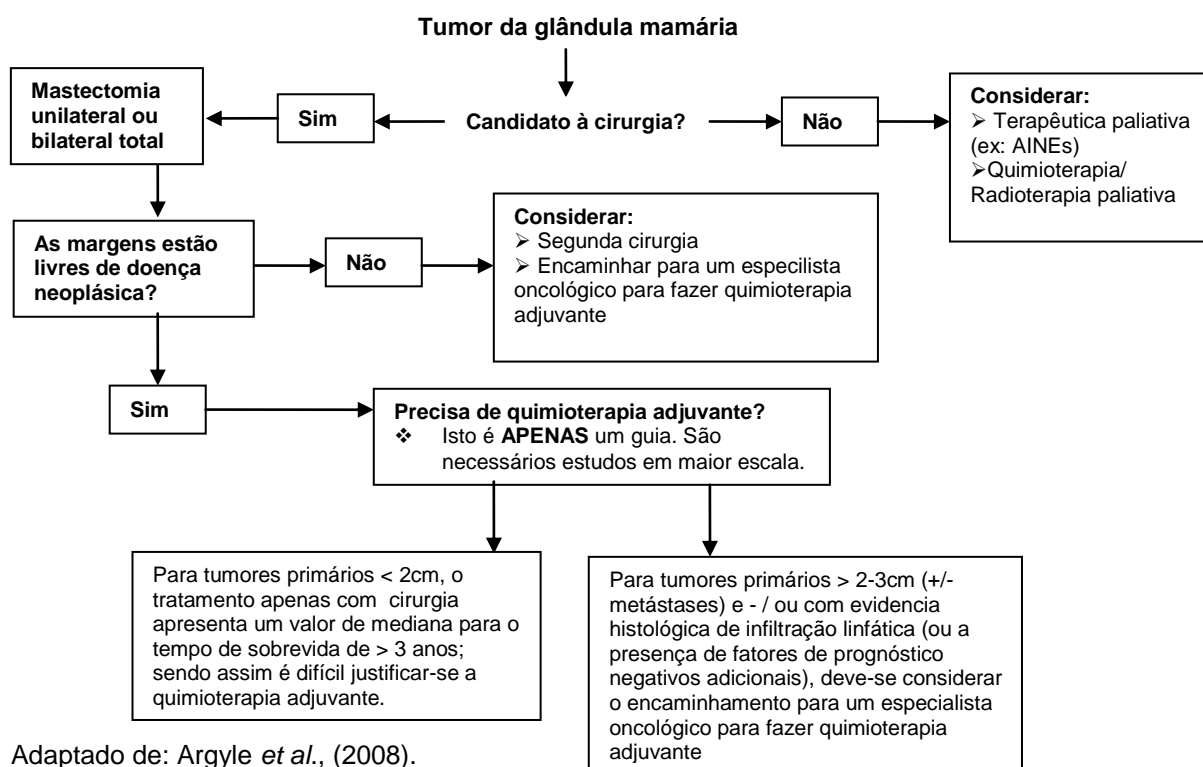
Tumores	Carcinoma Não Infiltrativo (<i>in situ</i>)	
Malignos	Carcinoma Túbulo-papilífero	
	Carcinoma Sólido	
	Carcinoma Cribriforme	
	Carcinoma de Células Escamosas	
	Carcinoma Mucinoso	
	Carcinossarcoma	
	Carcinoma ou Sarcoma em Tumores Benignos	
Tumores	Adenoma	Adenoma Simples
Benignos		Adenoma Complexo
	Fibroadenoma	Fibroadenoma de Alta Celularidade
		Fibroadenoma de Baixa Celularidade
	Tumor Misto Benigno	
	Papiloma Ductal	
Tumores não Classificados		
Hiperplasias/ Displasias mamárias	Hiperplasia Ductal	
	Hiperplasia Lobular	Hiperplasia Epitelial
		Adenose
		Hiperplasia Fibroadenomatosa felina (Alteração Fibroadenomatosa, Hipertrofia Mamária Felina, Hipertrofia Fibroepitelial)
	Quistos	
	Ectasia Ductal	
	Fibrose Focal (Fibroesclerose)	

Adaptado de: Misdorp *et al.* (1999).

6. Tratamento

A cirurgia é o tratamento de eleição para os tumores mamários em gatas. Devido à elevada frequência de tumores malignos que reduzem significativamente o tempo de sobrevida, é sugerida, em alguns casos, terapêutica adjuvante, nomeadamente quimioterapia, radioterapia (Henrik, 2010) e hormonoterapia. A quimioterapia pode ser benéfica no controle de alguns tumores malignos. Fármacos anti-estrogénicos, anti-progestagénicos ou anti-prolatina também podem ser úteis. Contudo, essas modalidades de tratamento, de um modo geral, não são utilizadas conjuntamente com a cirurgia, uma vez que a sua eficácia ainda carece de um estudo aprofundado (Fossum, 2013).

Figura 1. Árvore de decisão terapêutica nos tumores da glândula mamária felinos



6.1. Cirurgia

A cirurgia permite o diagnóstico histológico, modifica a progressão da doença, melhora a qualidade de vida e pode mesmo promover a cura (Fossum, 2013). De facto, como referido anteriormente, a cirurgia é o tratamento primário para estes tumores (Henry, 2010) a menos que o mesmo seja impossível de remover (Argyle *et al.*, 2008), ou já haja metástases à distância nos órgãos (Misdorp, 2002), pelo que, nesta última situação o procedimento cirúrgico apenas terá um carácter meramente paliativo. Muitas vezes o tempo que decorre entre a primeira ocorrência e o exame clínico é excessivamente longo, pelo que o cirurgião muitas vezes depara-se com um grande tumor infiltrativo que, por conseguinte, tem menor probabilidade de ser removido com margens limpas (Henrik, 2010). A extensão da ressecção é determinada pelo grau de infiltração e a localização do tumor, o seu tamanho, o número de tumores, e o estado dos linfonodos regionais. Também são fatores influentes na decisão a idade do animal e as expectativas do seu proprietário. Na espécie felina, a comunicação entre as glândulas não é muito óbvia, contudo, tendo em conta que o tamanho da massa primária é um importante fator de prognóstico e considerando que os tumores são geralmente muito agressivos nesta espécie, o tratamento radical (mastectomia uni ou bilateral) é o mais recomendado para estes animais (Morris & Dobson, 2001).

No que diz respeito à mastectomia unilateral total, está comprovado que a mesma diminui significativamente o grau de recidiva local face à lumpectomia, pelo que, nos felinos, esta técnica localizada geralmente não é utilizada (Henrik, 2010). Em um estudo com gatos machos diagnosticados com carcinomas mamários, observou-se uma tendência a haver uma recidiva local nos animais submetidos a um método de excisão mais regional (Skorupski *et al.*, 2005). Recomenda-se assim como método de eleição uma mastectomia unilateral ou bilateral faseada para o tratamento destas neoplasias malignas (Henrik, 2010; Thomson & Britt, 2012; Sorenmo *et al.*, 2013), independentemente do tamanho do tumor (Henrik, 2010; Thomson & Britt, 2012). Em um estudo com 100 gatos observou-se que a mastectomia total da cadeia mamária, quer fosse apenas unilateral, no caso dos gatos que possuíam tumor somente na cadeia mamária esquerda ou direita, ou a bilateral faseada, para aqueles que apresentavam tumores bilaterais, resultou em um intervalo livre de doença significativamente favorável a nível estatístico, em oposição aos gatos que fizeram um excisão regional do tumor. Nesse mesmo estudo verificou-se ainda uma tendência para melhores tempos de sobrevida para os gatos que foram submetidos à mastectomia total (MacEwen *et al.*, 1984). Um estudo recente demonstrou que o tempo de sobrevida melhorou significativamente com a utilização de mastectomia bilateral total (917 dias) face à mastectomia regional (428 dias) e à mastectomia unilateral (348 dias) ($p=0,0271$). Ainda segundo esse estudo, tendo em conta os dados atualmente disponíveis, os autores suportam a ideia de ser realizada mastectomia bilateral total em todos os gatos (Novosad *et al.*, 2006).

Recentemente foi efetuado ainda um estudo retrospectivo comparando pacientes que receberam cirurgia *versus* aqueles que em adição à cirurgia foram submetidos a quimioterapia adjuvante com doxorrubicina. Neste estudo, nos pacientes em que foram realizadas mastectomias unilaterais em cadeia seguidas de tratamento quimioterápico, o valor de mediana para o tempo de sobrevida foi significativamente mais longo do naqueles em que se efetuaram mastectomias unilaterais em cadeia sem quimioterapia adicional (1998 *versus* 414 dias respetivamente) ($p=0,03$). Nesse mesmo estudo, a recidiva local verificada em 50 % dos pacientes, embora não seja estatisticamente significativa, também parece apoiar a realização de mastectomia total para os carcinomas mamários felinos (McNeill *et al.*, 2009).

Quando a mastectomia bilateral é realizada, pode ser feita como um único procedimento cirúrgico ou como um procedimento faseado, em que as duas mastectomias estão separadas por um intervalo de 2 a 6 semanas (Henry, 2010), sendo este último caso a situação ideal (Argyle *et al.*, 2008), uma vez que, possibilita a cicatrização e relaxamento da pele esticada. A realização deste procedimento de uma só vez deve ser evitada, já que não têm sido relatados quaisquer benefícios significativos na sobrevida do animal, além de que,

este procedimento causa um maior desconforto pós-operatório desnecessário e ainda aumenta o risco de deiscência da ferida (Henrik, 2010).

Como referido previamente, os dois pares craniais de glândulas mamárias drenam para o linfonodo axilar, enquanto que os dois pares caudais drenam para o linfonodo superficial inguinal (Henrik, 2010). A circulação linfática põe em contacto algumas glândulas ipsilaterais não havendo normalmente comunicação entre as cadeias mamárias direita e esquerda. Todavia, por vezes há comunicação entre as duas cadeias mamárias através da linha média e, devido a este facto, recomenda-se a mastectomia bilateral faseada (Henrik, 2010). O linfonodo inguinal é removido com as glândulas mamárias caudais, contudo a excisão do linfonodo axilar normalmente não faz parte da mastectomia total (Henry, 2010). A remoção do mesmo só é recomendada se houver suspeita de doença metastática, comprovando por citologia pré-operatória o seu envolvimento, uma vez que a sua excisão profilática não parece ser benéfica (Henrik, 2010).

É de fundamental importância salientar que massas mamárias separadas no mesmo animal podem ser de diferente tipos histológicos, pelo que é importante garantir que cada uma dessas massas seja individualizada no relatório histopatológico (Henrik, 2010).

6.2. Quimioterapia

A quimioterapia consiste no tratamento farmacológico das neoplasias, envolvendo a administração sistémica e/ou regional de fármacos capazes de interromper a proliferação das células neoplásicas ou mesmo chegar a destruí-las (Gustafson & Page, 2012).

A combinação destes fármacos com ação citotóxica é uma estratégia importante e eficaz na quimioterapia (poliquimioterapia), posto que, quando usados em combinação, muitas vezes têm um efeito sinérgico. Os agentes quimioterápicos também são combinados para minimizar os seus efeitos adversos. O sucesso da poliquimioterapia em relação à monoquimioterapia assenta na capacidade de ultrapassagem da resistência, tanto natural como adquirida, das células tumorais, bem como na utilização de agentes que diferem nos efeitos secundários. A utilização desta estratégia permite reduzir o desenvolvimento da resistência ao fármaco nas células tumorais, na medida em que as células resistentes a um determinado quimioterápico podem ser sensíveis a outro utilizado nessa combinação. Para que se obtenha o efeito terapêutico máximo, pretende-se que seja utilizada uma dose de um determinado quimioterápico, ou uma combinação de quimioterápicos, que cause o mínimo efeito tóxico, tendo, no entanto, a máxima eficácia. A maioria destes agentes tem uma janela terapêutica muito estreita pelo que a sua dose mais eficaz acaba por ser, na maior parte das vezes, muito próxima da dose mínima tóxica (Gustafson & Page, 2012).

O objetivo da quimioterapia é destruir a maioria das células tumorais possíveis com cada dose, baseando-se a dose e a momento de cada tratamento na tolerância do tecido normal.

Deste modo, é preferível utilizar uma estratégia que permita ciclos de morte celular mais intensivos sem agravar a recuperação dos danos do tecido normal. A taxa de morte celular causada pelos vários agentes quimioterápicos está relacionada com a concentração dos mesmos no organismo do animal e com o grau de exposição das células cancerígenas ao longo do tempo (Gustafson & Page, 2012).

Devido à natureza agressiva dos tumores mamários felinos, particularmente no caso dos tumores maiores que 3 cm com um tempo reduzido de sobrevida, tem havido várias tentativas de usar a quimioterapia adjuvante após a cirurgia ou às vezes até como a única terapêutica em casos inoperáveis (Henrik, 2010). Todavia, na maioria dos casos de carcinoma invasivo, o tumor já está demasiado avançado na altura do diagnóstico para que a quimioterapia seja bem-sucedida (Morris & Dobson, 2001).

6.2.1. Agentes quimioterápicos

Os principais quimioterápicos utilizados em neoplasias mamárias são a doxorrubicina, a ciclofosfamida e a mitoxantrona. A doxorrubicina pode ser utilizada sozinha ou em protocolos combinados com algum destes agentes (Argyle *et al.*, 2008; Henrik, 2010), sendo os protocolos com base na doxorrubicina os que têm sido avaliados com mais frequência (Henry, 2008).

A doxorrubicina é um antibiótico anti-tumoral com a capacidade de reagir com vários componentes celulares, tendo neles um efeito tóxico. As suas ações incluem a união ao ADN, intercalando-se entre os pares de base, a inibição da ARN e ADN polimerases e topoisomerase II, alquilação do ADN, formação de oxigénio reativo, perturbação da homeostase celular do cálcio, inibição da tioredoxina redutase além de interagir com os componentes da membrana plasmática. Estes processos estão envolvidos quer no efeito anti-tumoral da doxorrubicina, quer nos efeitos secundários dose-limitantes deste quimioterápico. Após a sua administração endovenosa, a doxorrubicina é extensamente distribuída pelos tecidos, ligando-se ao ADN celular e lípidos aniónicos. A sua metabolização ocorre no fígado, sendo eliminada, na sua forma inalterada bem como os seus metabolitos, por via renal e biliar. Os efeitos adversos associados ao tratamento com este quimioterápico são a hipersensibilidade dependente da taxa de perfusão, mielossupressão, anorexia, toxicidade gastrointestinal além de nefrotoxicidade (Crump & Thamm, 2011; Gustafson & Page, 2012). Apesar de na espécie canina a doxorrubicina poder causar cardiotoxicidade, o mesmo não se verifica nos gatos, já que trata-se de uma toxicidade cumulativa, necessitando para isso de uma dose de 240mg/m^2 deste fármaco no organismo do animal, para causar os seus efeitos tóxicos no miocárdio (Lana & Dobson, 2013). A dose utilizada nos gatos é de 25mg/m^2 a cada 3 semanas, administrada apenas por via endovenosa, devendo ser observados certos cuidados aquando da administração de

modo a que não sejam causados graves danos nos tecidos, que podem inclusivamente progredir para a sua necrose, ainda que apenas uma pequena quantidade seja administrada extravascular. Pode ocorrer ainda uma reação de hipersensibilidade durante a administração, pelo que os pacientes devem ser monitorizados com particular atenção para a vermelhidão da pele ou membranas mucosas, o agitar da cabeça, edema facial, ou erupção cutânea, durante a administração. Adicionalmente, devido à nefrotoxicidade acima mencionada, a função renal deve ser avaliada antes de cada tratamento, tendo em conta que este fármaco é excretado por via renal além da via biliar. Conjuntamente com a avaliação renal, deve proceder-se à avaliação hepática, uma vez que este agente além de ser metabolizado nos tecidos extra-hepáticos, também o é no fígado, pelo que, se houver um comprometimento da função hepática a sua metabolização não será feita corretamente (Crump & Thamm, 2011; Gustafson & Page, 2012).

A mitoxantrona é um análogo sintético da doxorrubicina, pelo que tem uma atividade similar à mesma no que diz respeito a intercalar-se entre os pares de base do ADN e inibição da ARN e ADN polimerase e topoisomerase II. Ao contrário da doxorrubicina, este agente não causa danos oxidativos às células. A mitoxantrona não é extensivamente metabolizada e uma grande fração deste composto (<30%) é excretada inalterada na urina bem como nas fezes. A administração deste quimioterápico é feita por via endovenosa, devendo-se ter especial cuidado neste procedimento uma vez que, tal como a doxorrubicina, também pode causar danos nos tecidos se for administrada extravascular. A mitoxantrona tem como efeitos de toxicidade dose-limitante distúrbios gastrointestinais e a mielossupressão (Crump & Thamm, 2011; Gustafson & Page, 2012). Todavia, quando os gatos apresentam a função renal comprometida, a mitoxantrona pode ser usada como uma alternativa à doxorrubicina, já que esta, como foi mencionado, tem um efeito nefrotóxico nesta espécie (Argyle *et al.*, 2008).

A ciclofosfamida é um fármaco alquilante por vezes utilizado em combinação com a doxorrubicina. Este quimioterápico pode ser administrado por via endovenosa ou por via oral, sendo ativado pelo fígado e excretado por via renal. A ciclofosfamida pode ter como efeitos tóxicos a neutropenia e trombocitopenia. Também tem sido descrita toxicidade gastrointestinal, nomeadamente náuseas e vômito, nos gatos. Devido ao risco de cistite hemorrágica, apesar de ser pouco comum nas doses convencionais, a furosemida é muitas vezes administrada em conjunto com a ciclofosfamida, a fim de diluir a urina e estimular a excreção do metabolito causador da irritação na bexiga. A administração da ciclofosfamida deve ser descontinuada de modo permanente caso a cistite hemorrágica ocorra, sendo o clorambucil o seu substituto num protocolo com múltiplos fármacos (Crump & Thamm, 2011; Gustafson & Page, 2012).

Relativamente poucos estudos têm avaliado o papel da quimioterapia para o tratamento primário ou adjuvante das neoplasias mamárias felinas. Não obstante a literatura suporta o

uso de quimioterapia adjuvante para o tratamento de carcinomas mamários felinos de estadio avançado, apesar do seu papel no tratamento das neoplasias de estadio I ainda não ser muito claro (Henry, 2008). Segundo Henry (2008), cerca de um terço a metade dos gatos com neoplasias mamárias de estadio III ou IV têm respostas mensuráveis para a combinação de doxorrubicina e ciclofosfamida.

Em um estudo com 14 gatos com adenocarcinoma mamário avançado, sendo todos eles tumores inoperáveis ou recorrentes e 9 deles inclusivamente com metástases no tórax, a quimioterapia combinada com esses agentes demonstrou induzir uma resposta completa (mais de 50% de regressão do tumor) em 4 desses pacientes, uma resposta parcial (menos de 50% de regressão do tumor) em outros 2 casos, estabilizando-se ainda a doença em outros 2 animais (Jeglum, deGuzman, & Young, 1985). Em outro estudo, 7 das 14 gatas com adenocarcinomas mamários inoperáveis, tratadas com doxorrubicina e ciclofosfamida, tiveram uma resposta parcial (Mauldin, Matus, Patnaik, Bond, & Mooney, 1987).

Apesar da quimioterapia com a combinação de agentes quimioterápicos, nomeadamente com a doxorrubicina e a ciclofosfamida ter sido descrita, a eficácia de cada fármaco como um agente único é em grande parte desconhecida devido à falta de estudos clínicos em larga escala (Argyle *et al.*, 2008).

Numa investigação preliminar sobre a sensibilidade das células tumorais mamárias em cultura a fármacos citostáticos, os carcinomas mamários felinos demonstraram ser mais sensíveis à doxorrubicina e ao 5-fluorouracilo (Prop *et al.*, 1986). Foi desenvolvido um ensaio a fim de comparar a sensibilidade, *in vivo* e *in vitro*, dos carcinomas mamários felinos à adriamicina (doxorrubicina). Ao comparar as respostas *in vivo* e *in vitro*, a maior sensibilidade (100%) foi obtida utilizando 2,00 microgramas/ml de doxorrubicina *in vitro* e com 5 administrações de 30 mg/m² de doxorrubicina *in vivo*. Os tumores que reincidiram após o tratamento demonstraram ter uma maior resistência *in vitro* (Stolwijk *et al.*, 1989).

Mais recentemente foi realizado um estudo clínico comparando a mitoxantrona (5 mg/m² administrada a cada 21 dias, IV em quatro doses totais) à doxorrubicina (quatro doses de 20 mg/m² a cada 21 dias, via IV) para o tratamento adjuvante de carcinomas mamários felinos após mastectomia radical (unilateral ou bilateral). A análise dos dados não indicou nenhuma diferença estatisticamente significativa nos resultados entre os dois grupos. Para a doxorrubicina o valor de mediana para o tempo de sobrevida foi de 484 dias e o valor de mediana para o intervalo livre de doença foi de 940 dias enquanto que para a mitoxantrona ambos os parâmetros tiveram a duração de 747 dias (Henry, 2008; Henry, 2010).

Segundo Morris & Dobson (2001), algum sucesso tem sido obtido com a quimioterapia pós-cirúrgica com o uso de doxorrubicina (com ou sem ciclofosfamida). A doxorrubicina, quando administrada na dose de 25 mg/m², por via endovenosa, durante cinco ciclos, demonstrou benefícios em alguns gatos, contudo a sua eficácia carece de estudos mais vastos (Argyle *et al.*, 2008). Em estudos de menores dimensões tem sido relatado que a

doxorrubicina, sozinha ou em combinação com a ciclofosfamida, resultou em respostas parciais em gatos com lesões locais inoperáveis ou com metástases à distância, e teve eficácia contra carcinomas mamários felinos (Stolwijk *et al.*, 1989).

Em um estudo retrospectivo, 67 gatos com confirmação histológica de adenocarcinoma da glândula mamária foram submetidos a ressecção cirúrgica seguida de um tratamento quimioterápico adjuvante com doxorrubicina na dose de 25 mg/m², por via endovenosa, com um intervalo de 21 dias entre cada ciclo de tratamento, num máximo de cinco tratamentos ou até que o animal desenvolvesse doença progressiva ou concomitante. Os motivos mais comuns para a interrupção do tratamento com a doxorrubicina incluíram ineficácia terapêutica (7,5%) e o desenvolvimento de doença renal (4,5%). A quimioterapia teve início aquando da remoção da sutura. Nesse estudo o valor de mediana do intervalo livre de doença foi de 255 dias enquanto que para o tempo de sobrevida o valor de mediana foi de 448 dias. A taxa de sobrevida de um ano foi de 58,9% enquanto que a taxa de sobrevida de 2 anos foi de 37,2%. Gatos com metástases nos linfonodos apresentaram um longo período de sobrevida, 1543 dias, enquanto que aqueles com metástases pulmonares tiveram um valor de mediana de 331 dias para o tempo de sobrevida. Também foi demonstrado que as gatas que completaram o protocolo de doxorrubicina adjuvante melhoraram significativamente a taxa de sobrevida face às que não o completaram. O tratamento completo com as 5 doses de doxorrubicina afetou positivamente o prognóstico com um intervalo livre de doença de 442 dias *versus* 104 dias, para aqueles que não completaram o protocolo (p=0,0002). Fatores prognósticos para o intervalo livre de doença, além do término de todas as sessões de quimioterapia, foram: o volume de tumor, o tipo histológico, o desenvolvimento da doença metastática e a localização da doença metastática. Neste estudo, as gatas com tumores maiores que 3 cm, tratadas com cirurgia e quimioterapia, tiveram um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 200 dias em comparação com os 4-6 meses relatados na literatura. Os tumores mamários ulcerados foram associados a doença mais avançada e os tumores anaplásicos ou tumores de grau de malignidade mais elevado também foram associados a menor tempo de sobrevida. Em geral, 52% das gatas desenvolveram doença metastática, sendo que as gatas com metástases nos linfonodos tiveram um valor de mediana para o tempo livre de doença de 1.122 dias, enquanto que nas que apresentavam metástases pulmonares esse período foi de 183 dias. O pior prognóstico pertenceu às gatas com metástase pleural e tumor anaplásico de elevado grau histológico, permanecendo estas livres de doença 115 e 95 dias respetivamente, apesar da quimioterapia adjuvante. Quase metade do grupo teve um intervalo livre de doença de 4 anos ou mais (41,5%), indicando claramente a possibilidade de tratamento de casos selecionados de tumores mamários felinos com doxorrubicina adjuvante. Com base nesses resultados, a cirurgia e a quimioterapia podem oferecer um melhor prognóstico para os

gatos com doença mais avançada do que apenas a realização de cirurgia (Novosad *et al.*, 2006).

Um outro estudo retrospectivo descrevendo resultados em gatas tratadas com doxorubicina numa perspectiva adjuvante, relatou um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 450 dias em gatas com tumores com menos de 2 cm de diâmetro (McNeill *et al.*, 2009). De um modo interessante, um outro estudo que avaliou a utilização de um protocolo quimioterápico que combinava doxorubicina e um AINE (meloxicam), relatou um valor de mediana para o tempo de sobrevida semelhante, 460 dias. Nesse estudo não foi incluído nenhum grupo de controlo composto por gatas tratadas única e exclusivamente com cirurgia, pelo que o benefício da adição da quimioterapia não foi passível de se determinar (Borrego, Cartagena, & Engel, 2009).

Em um outro estudo, também ele retrospectivo, foram comparados os resultados de 37 gatas tratadas unicamente com cirurgia em relação às 36 gatas tratadas com cirurgia e quimioterapia adjuvante (4 gatas apenas com doxorubicina e 32 com doxorubicina e ciclofosfamida). Não houve grandes diferenças em termos de procedimento cirúrgico, tamanho do tumor, estadio ou parâmetros histopatológicos entre os grupos. Numa análise entre os dois grupos deste estudo não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos de tratamento no que diz respeito ao tempo de sobrevida global ($p=0,78$). O tempo de sobrevida foi de 1406 e o intervalo livre de doença foi de 372 para as gatas que foram submetidas apenas à cirurgia enquanto que o tempo de sobrevida foi de 848 e o intervalo livre de doença foi de 676 dias para o grupo que, em adição à cirurgia, fez quimioterapia. No entanto, gatas submetidas a mastectomia unilateral em cadeia e tratadas com quimioterapia adjuvante sobreviveram significativamente mais tempo do que as gatas apenas submetidas a mastectomia unilateral em cadeia (1998 dias *versus* 414 dias) ($p=0,03$). Estes resultados suportam o uso de quimioterapia adjuvante nestas circunstâncias (McNeill *et al.*, 2009). O interessante é que nenhum desses estudos retrospectivos relataram tempos de sobrevida tão longos quanto os dos estudos anteriores utilizando apenas a cirurgia, especialmente no subconjunto das gatas com tumores pequenos. Este exemplo ilustra bem a dificuldade de comparação de resultados entre estudos retrospectivos, especialmente os que não são contemporâneos. Em última análise, mais estudos prospetivos serão necessários para determinar o uso adequado de quimioterapia em gatas com tumores mamários. Apesar da falta de evidência qualitativa na literatura para apoiar este tipo de tratamento, os oncologistas veterinários continuam a optar pelo uso da quimioterapia em gatas com neoplasias mamárias (Sorenmo *et al.*, 2013).

6.3. Eletroquimioterapia

A eletroquimioterapia é uma nova modalidade terapêutica que combina a administração local ou sistêmica de agentes terapêuticos com a aplicação direta de impulsos elétricos no tumor a tratar, de modo a criar eletropermeabilização. Em oncologia veterinária a eletroquimioterapia tem-se revelado bastante eficaz no tratamento de tumores cutâneos e subcutâneos de diferentes tipos histológicos em gatos, cães e cavalos. Estes resultados têm sido bastante auspiciosos, demonstrando uma resposta objetiva e duradoura em cerca de 80% dos casos tratados com esta nova modalidade terapêutica. A eletroquimioterapia apresenta assim uma eficácia promissora, podendo assim ser usada no tratamento dos tumores primários ou recorrentes, únicos ou múltiplos, cutâneos e subcutâneos, de diferentes tipos histológicos, quer seja de um modo isolado ou como complemento à cirurgia (Cemazar *et al.*, 2008).

O principal mecanismo da eletroquimioterapia é a eletropermeabilização das células tumorais, o que possibilita quimioterápicos com fraco poder de penetração da membrana celular, nomeadamente a bleomicina e a cisplatina, atingirem os seus alvos intracelulares (Cemazar *et al.*, 1999; Belehradek *et al.*, 1994). Deste modo, as células endoteliais são sensíveis à bleomicina bem como à cisplatina, desde que a sua administração seja seguida de eletropulsção. A eletropulsção, por sua vez, consiste na aplicação direta e local de impulsos elétricos intensos, porém de curta duração, nas células e tecidos, de modo a que, em condições controladas, causem a permeabilização direcionada da membrana celular, ou seja, a sua eletropermeabilização ou eletroporção. Este aumento da permeabilidade da membrana permite a entrada otimizada dos agentes quimioterápicos nas células, potenciando assim a sua ação. Para que o agente quimioterápico seja eficaz neste tratamento combinado com a eletropulsção, deverá possuir propriedades químicas que o incapacitem de atravessar a membrana celular ou deve haver a ausência de um mecanismo de transporte que lhe permita atravessar a membrana celular (Mir, 2006; Cemazar *et al.*, 2008).

A eletropermeabilização ou eletroporção tem como base dois fenómenos principais induzidos na membrana celular: o primeiro é crucial e trata-se da indução de uma diferença de potencial transmembranar na membrana da célula quando esta é submetida a um campo elétrico, sendo que, se esta diferença de potencial atingir determinados valores, pode causar um aumento da permeabilidade da membrana celular; o segundo consiste no transporte das moléculas do agente quimioterápico através da membrana celular permeabilizada após o impulso elétrico. Deste modo, a eletropermeabilização assenta-se no princípio básico da reorganização da membrana celular, eletricamente mediada pelos campos elétricos que induzem e/ou ativam os poros da membrana celular, causando a sua destabilização transitória e permeabilizando-a de modo a permitir a entrada de moléculas presentes no

espaço extra-celular para o citoplasma. Esta é uma ocorrência local a nível da superfície celular, sendo apenas induzida quando a força do campo elétrico local excede um limiar crítico. Desta feita, as moléculas polares podem então atravessar a membrana, havendo assim uma concentração do agente quimioterápico no citoplasma das células. Esta concentração está sob o controlo da força do campo e da duração do impulso. A alteração da membrana permanece após o impulso. Contudo, os “eletroporos” formados são espontaneamente selados, deixando a viabilidade das células não afetadas, se forem escolhidos os parâmetros elétricos adequados (Cemazar *et al.*, 2008). A aplicação de impulsos elétricos a nível dos tecidos induz também uma redução transitória e reversível do fluxo sanguíneo, o que leva a um sequestro do agente quimioterápico no tecido pretendido durante várias horas, proporcionando um maior tempo de ação no local da aplicação. Adicionalmente, este fenómeno também impede o sangramento do tecido, o que é importante no caso de tumores hemorrágicos. Este facto ocorre devido ao efeito citotóxico da eletroquimioterapia que atinge as células tumorais, fazendo-se também sentir nas células do estroma, nomeadamente nas células endoteliais dos vasos sanguíneos, causando a sua morte, a perturbação do aporte sanguíneo tumoral e, consequentemente, a morte das células tumorais em redor dos vasos. Essa ação de interrupção do aporte sanguíneo causada pela eletroquimioterapia contribui para a sua eficácia anti-tumoral (Sersa *et al.*, 2002).

O sistema imunitário também está envolvido na eficácia anti-tumoral da eletroquimioterapia. A apresentação dos antígenos tumorais às células de reconhecimento do sistema imunitário ocorre aquando da morte das células neoplásicas após a eletroquimioterapia, sendo assim induzida a resposta sistémica imunitária (Cemazar *et al.*, 2008).

Estudos têm demonstrado que as doses de quimioterápico, cuja eficácia anti-tumoral é pouca ou nenhuma, quando administradas através da eletroquimioterapia, têm apresentado cerca de 80% de respostas completas. As doses de medicamentos usadas normalmente são tão baixas que não causam toxicidade sistémica, sendo por isso um tratamento bem tolerado (Cemazar *et al.*, 2008). Os efeitos colaterais mais comuns da eletroquimioterapia tem sido as contrações musculares involuntárias no local de aplicação dos impulsos elétricos, contudo as mesmas apenas ocorreram durante esse procedimento, cessando após a sua aplicação (Miklavcic *et al.*, 2005). A via de administração pode ser tanto intratumoral quanto endovenosa. A bleomicina pode ser administrada por via endovenosa ou por via intratumoral, enquanto que a cisplatina deve ser apenas administrada por via intratumoral. O intervalo de tempo entre a administração do agente e a aplicação de impulsos elétricos é importante porque é necessário que esteja presente uma quantidade suficiente do quimioterápico no tumor aquando da aplicação os impulsos elétricos (Cemazar *et al.*, 2008).

Na maior parte dos estudos efetuados de eletroquimioterapia em pequenos animais, o agente quimioterápico utilizado foi a cisplatina, sendo a eletroquimioterapia utilizada como forma de tratamento único e não de um modo adjuvante. Apenas recentemente foram efetuados estudos com a bleomicina, administrada intratumoralmente, quer isoladamente ou como forma de tratamento adjuvante à cirurgia (Cemazar *et al.*, 2008).

Foi efetuado um estudo cujo objetivo consistiu na introdução da eletroquimioterapia com cisplatina, em medicina veterinária, sendo avaliada a resposta ao tratamento em diferentes tipos de tumores em cães e gatos, comparando os casos em que apenas foram tratados com cisplatina em relação aos que foram sujeitos a eletroquimioterapia com este mesmo quimioterápico. Deste estudo fizeram parte 3 gatos com adenocarcinoma e fibrossarcoma mamário. A eletroquimioterapia com cisplatina revelou ter um bom efeito anti-tumoral em todos os tumores tratados. Verificou-se que, num período de 4 semanas após o tratamento, a dimensão média dos tumores tratados com esta terapêutica reduziu consideravelmente para 0,01 cm³, face aos tumores tratados unicamente com a administração intratumoral de cisplatina, cujo tamanho médio, apresentado ao fim desse tempo, era de 3,0 cm³. De um modo geral, as neoplasias tratadas com a eletroquimioterapia demonstraram 84% de respostas objetivas, ao passo que dos tumores tratados apenas com a cisplatina, só um tumor respondeu parcialmente a esse tratamento. Além disso, nos tumores submetidos a eletroquimioterapia houve um significativo aumento da duração do tempo de resposta. Neste estudo concluiu-se que o tratamento eletroquimioterápico de diferentes tipos histológicos de tumores cutâneos e subcutâneos em cães e gatos, utilizando a cisplatina é um tratamento local eficaz, seguro e simples e cujos resultados foram significativamente melhores do que o tratamento isolado com esse mesmo agente quimioterápico (Tozon, Sersa, & Cemazar, 2001).

Todavia, um maior número de estudos deve ser realizado para a plena confirmação dos resultados promissores desta forma de tratamento (Cemazar *et al.*, 2008).

6.4. Radioterapia

Embora a radioterapia seja um componente importante no tratamento do cancro da mama nas mulheres, a sua ação permanece largamente inexplorada nos tumores mamários das gatas (Henry, 2010). Segundo Argyle *et al.* (2008), há uma falta de informação clínica sobre a eficácia de radioterapia para os tumores mamários felinos. Outros autores, como Morris & Dobson (2010), chegam mesmo a afirmar que esta forma de tratamento não se tem mostrado eficaz no tratamento destes tumores para esta espécie. De acordo com Henrik (2010), não há evidências de que a radioterapia seja benéfica em melhorar o resultado clínico em neoplasias mamárias felinas, em comparação com a cirurgia por si só, pelo que raramente é usada num cenário adjuvante. Contudo, o seu caráter paliativo em neoplasias

inoperáveis pode suportar o uso adjuvante desta terapia. Dada a eficácia da radioterapia em mulheres com cancro da mama, justifica-se uma avaliação mais aprofundada desta forma de tratamento nos felinos (Henry, 2010).

6.5. Imunoterapia

A resposta imunológica pode interferir com o desenvolvimento dos tumores, tal como indicado pela ocorrência simultânea de regressão espontânea e a presença de infiltrados linfocitários, pelo que a imunoterapia pode constituir um método eficaz para o tratamento de tumores, quer isoladamente, bem como em conjunto com a cirurgia, quimioterapia ou outras técnicas terapêuticas, conduzindo à redução do tumor. Apesar da sua eficácia teórica e a sua longa história de aplicação clínica, a imunoterapia ainda se encontra em investigação nos animais de companhia. O sucesso deste método de tratamento depende da possibilidade de indução, aumento ou desbloqueio da reatividade imunológica contra o tumor. Uma característica importante é a presença, nas células tumorais, de antígenos associados ao tumor e possivelmente estruturas, até então desconhecidas, que sejam capazes de provocar a rejeição através da ativação das células imunocompetentes, ou que atuem como alvos para os anticorpos monoclonais, linfócitos *natural killer* ou linfócitos que infiltram os tumores (Rutten *et al.*, 1990). Em gatos com carcinomas mamários nenhuma citotoxicidade específica mediada por células foi ainda demonstrada (Weijer, 1980).

Rutten *et al.* (1990) constatou que o tratamento dos tumores mamários felinos com o uso de imunomodeladores como bacillus Calmette-Guérin (BCG), a vacina do *Corynebacterium parvum* e levamisol, administrados intratumoralmente ou por via subcutânea, eventualmente em conjunto com cirurgia, não demonstraram qualquer sucesso (Rutten *et al.*, 1990).

Com o surgimento de anticorpos monoclonais que reconheçam antígenos do carcinoma mamário felino, a deteção e a erradicação de micrometástases pode vir a ser possível (Minke, 1990). Num estudo para deteção de anticorpos monoclonais, foram injetadas subcutaneamente duas linhas celulares de carcinoma mamário felino cujo resultado foi a metastização de tumores que pode ser identificada recorrendo ao uso de anticorpos monoclonais marcados radioativamente. Este modelo felino abre as portas para estudos futuros sobre o diagnóstico e erradicação de micrometástases (Minke, Weijer, & Misdorp, 1991).

Outras pesquisas têm sido ainda feitas nomeadamente em relação à atividade do Interferão ómega recombinante felino (rFeIFN- ω), quer isoladamente ou em conjunto com a quimioterapia, em linhas celulares de carcinoma mamário felino (CAT-MT), bem como nas células iniciadoras de tumores putativas (tumor-initiating cells - TIC) isoladas a partir dessas linhas celulares. Foi registada atividade anti tumoral, *in vitro*, por parte do interferão, quer nas linhas celulares de carcinoma mamário como nas TICs putativas, com uma ação dose-

dependente e específica. Verificou-se ainda que as células TIC são mais resistentes à ação do interferão em comparação com as células-filhas CAT-MT. Registou-se ainda um efeito aditivo entre o interferão e os fármacos anti-cancerígenos convencionais, todavia são necessários mais ensaios experimentais (Penzo, Ross, Muirhead, Else, & Argyle, 2009).

A imunoterapia, bem como os estudos a respeito das respostas imunológicas naturais e induzidas, ainda merecem particular atenção sendo esta uma área que carece de melhor exploração para estes animais (Rutten *et al.*, 1990).

6.6. Hormonoterapia

Como visto anteriormente, devido a uma baixa expressão dos REs nos carcinomas mamários felinos não é provável que a hormonoterapia seja muito efetiva, mas ainda carecem de ser efetuados mais estudos nesse âmbito (Sorenmo *et al.*, 2013). Não obstante, as hormonas de crescimento exercem os seus efeitos sobre a carcinogénese mamária nos gatos (Sorenmo *et al.*, 2013) e a expressão de REs e RPs está implicada nos estadios iniciais do desenvolvimento de tumores mamários (De las Mulas *et al.*, 2002) e como já foi referido anteriormente de forma mais detalhada, segundo Overley *et al.* (2005), os benefícios da realização de ovariectomia (OVH) em fêmeas jovens, para prevenção do aparecimento destes tumores, estão comprovados. Contudo, a ovariectomia realizada numa gata adulta simultaneamente com a mastectomia não parece diminuir a incidência de recorrência ou promover benefícios a nível do tempo de sobrevivência, apesar de ter efeitos benéficos como impedir patologias uterinas, nomeadamente piómetras e metrites, e diminuir significativamente a influência hormonal nos tumores existentes. Se estes dois procedimentos forem realizados simultaneamente é importante ressaltar que a OVH deve ser realizada em primeiro lugar, evitando que haja dispersão das células tumorais na cavidade abdominal (Fossum, 2013). A realização da OVH é ainda utilizada, nos casos de hiperplasia fibroadenomatosa felina (alteração fibroadenomatosa felina/hipertrofia mamária felina/hipertrofia fibroepitelial), verificando-se muitas vezes regressão do tecido hiperplásico. É importante ressaltar que quer seja realizada uma OVH ou não, essa condição benigna, muitas vezes resolve-se espontaneamente dentro de algumas semanas, podendo ainda ser tratada com terapêutica hormonal, nomeadamente com o recurso a fármacos anti-progestagénicos (Henrik, 2010; Sorenmo *et al.*, 2013; Fossum, 2013). Não obstante, o risco de recidiva diminui com este procedimento cirúrgico (Henrik, 2010).

Compostos anti-estrogénicos, tais como tamoxifeno, sendo este um inibidor seletivo dos recetores de estrogénio ao nível da glândula mamária, são extremamente úteis na terapêutica de tumores mamários em medicina humana, na medida em que retardam a recorrência de tumores e metástases (Morris & Dobson, 2001). Todavia, não há evidência de que a terapia hormonal seja eficaz nos tumores mamários da gata (MacEwen, 1990).

6.7. Terapêuticas adjuvantes não citotóxicas

Foi realizado um estudo retrospectivo com 23 gatas a fim de analisar a eficácia do tratamento de adenocarcinomas mamários felinos com o uso adjuvante de um inibidor das ciclooxigenases (COX-2), meloxicam, associado à excisão cirúrgica e à quimioterapia. Em todos os casos os animais foram submetidos a cirurgia invasiva seguida de quimioterapia com doxorrubicina. O meloxicam foi administrado oralmente, nas 24 horas seguintes à cirurgia por um período de tempo indeterminado. Não foram verificadas quaisquer diferenças significativas no intervalo livre de doença nem no tempo de sobrevida, comparativamente a outros estudos que não utilizaram inibidores das COX-2, não corroborando assim o uso desta combinação terapêutica. São necessários estudos prospectivos com maior casuística para investigar a utilidade deste protocolo combinado de tratamento para os tumores mamários das gatas (Borrego *et al.*, 2009).

Fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) parecem reduzir o risco do desenvolvimento de tumores, uma vez que são agentes inibidores da COX-2 (Grösch *et al.*, 2006). Porém a administração crônica de AINES em gatos é controversa e é contraindicada, na maioria dos casos. Os gatos têm uma baixa capacidade de glucoronidação hepática, e uma vez que este é o principal mecanismo de metabolização destes fármacos, a sua administração não é assim recomendada. Adicionalmente, os seus efeitos tóxicos também se fazem sentir a nível renal, gastrointestinal ou ainda a nível da coagulação (Lascelles, Court, Hardie & Robertson, 2007).

6.8. Maneio da dor e terapias de suporte

Tal como na Medicina Humana, em que a terapêutica analgésica desempenha um papel fundamental no tratamento de pacientes oncológicos, em Medicina Veterinária, os nossos pacientes devem merecer o mesmo cuidado e com igual importância, tendo em vista melhorar a sua qualidade de vida (Simon, 2006). Contudo, infelizmente, o maneio da dor nos pacientes oncológicos animais às vezes está aquém daquilo que se pretende devido a inúmeros fatores, como por exemplo, a dificuldade de avaliar a dor em muitas condições neoplásicas; a inadequada reavaliação da dor nestes pacientes após a implementação da terapia; o receio ou falta de conhecimento relativamente aos efeitos da terapia analgésica e a falha na comunicação com o proprietário (Lascelles, 2013).

A dor é uma experiência multifatorial com uma componente sensorial (a sensação), afetiva/emocional, e funcional (permitindo ou não que o sujeito ainda realize funções específicas). Além da dor causada pelo próprio tumor, a dor nos pacientes oncológicos pode também ser causada pelo próprio tratamento, nomeadamente pela quimioterapia, radioterapia, ou cirurgia (Lascelles, 2013).

Uma correta avaliação da dor nos felinos pode ser extremamente difícil, uma vez que, é provável que a tolerância à dor varie de paciente para paciente. Além disso, esta espécie tem uma capacidade inata para mascarar a doença e a dor. No exame físico podem estar presentes variações fisiológicas como a taquicardia, taquipneia e midríase, contudo estes não são achados específicos. Lascelles (2013) propõe que para a avaliação da dor sejam verificados os seguintes parâmetros: a dor induzida por palpação, parâmetros de atividade e parâmetros comportamentais. A dor pode ser provocada por palpação da área afetada, ou pela sua manipulação, exacerbando a dor presente. Nesses casos o animal pode manifestar dor demonstrando uma resposta de aversão, isto é, o animal pode tentar escapar do procedimento, vocalizar ou morder. Em relação aos restantes parâmetros podem ser observados os seguintes aspetos: diminuição da atividade; alteração da expressão facial; a perda de apetite associada à dor crónica; alterações comportamentais tais como a agressividade, prostração, entre outras; alterações respiratórias (taquipneia pode estar presente numa situação de dor intensa) e trauma autoinfligido (Lascelles, 2013).

Os fármacos são o meio de eleição para o manejo da dor oncológica, embora terapêuticas que não recorram a esse recurso estejam a ganhar uma importância cada vez mais significativa (Lascelles, 2013). Essas modalidades de alívio da dor incluem métodos não farmacológicos como a própria cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia paliativas cujos objetivos consistem em promover o alívio da dor, a melhoria das funções vitais, o controlo dos sinais clínicos e ainda, se possível, prolongar a vida do animal (Lascelles, 2013).

Dentro dos métodos farmacológicos utilizam-se os seguintes grupos de analgésicos: analgésicos não-opioides (por exemplo, anti-inflamatórios não esteróides [AINEs] como por exemplo o meloxicam), medicamentos opioides fracos (por exemplo, o tramadol, a codeína), opioides fortes (por exemplo, a buprenorfina) e fármacos adjuvantes (por exemplo, os antieméticos). Os AINES e os opioides são os mais utilizados. A abordagem à dor oncológica tem vindo a ser proposta, pela OMS, num sistema de três etapas em que, para uma dor leve utilizam-se substâncias não-opioides, nomeadamente os AINEs podendo também utilizar-se conjuntamente fármacos adjuvantes. Caso a dor persista ou em caso de dor moderada, deve-se adicionar um “opioide fraco” e, se a dor se mantiver ou em caso de dor intensa, deve-se introduzir um opioide mais forte (Lascelles, 2013).

A medicação pode ser administrada oralmente, parenteralmente ou através de pensos transdérmicos (adesivo de fentanil) (Lascelles, 2013). Particularmente no período perioperatório, pode ser feita uma analgesia local através da administração epidural de anestésico local para um efeito analgésico com duração de até 24 horas (Simon, 2006).

Uma analgesia adequada durante e após a mastectomia é imprescindível (Moore, 2006).

Quanto aos fármacos adjuvantes, nomeadamente os antieméticos, como o maropitant e a metoclopramida, estes podem ser úteis na redução dos efeitos adversos causados pelo tratamento quimioterápico, principalmente gastrointestinais, podendo a metoclopramida,

inclusivamente, quando administrada por via oral, aumentar um pouco o apetite destes animais (Simon, 2006). Em adição aos antieméticos, os suplementos alimentares bem como os estimulantes do apetite também devem ser utilizados durante a terapia de modo a prevenir a perda de peso e facilitar a recuperação (Moore, 2006). No entanto, os estimulantes do apetite apenas são utilizados quando não se consegue que o animal mantenha o seu apetite recorrendo a procedimentos simples, como a mudança para uma dieta altamente palatável e apresentada tépida ao animal, num local sossegado e confortável. A ciproheptadina é um estimulante do apetite geralmente eficaz nos gatos. Outro estimulante do apetite é o diazepam, um derivado das benzodiazepinas, que é ótimo para o tratamento a curto prazo no hospital, no entanto não é adequado para a terapêutica em casa. Nos casos em que as medidas descritas anteriormente não sejam suficientes para manter o apetite do animal, pode considerar-se a nutrição entérica recorrendo assim a sondas de alimentação nasogastricas, via esofagostomia, gastrostomia ou tubos naso-esofágicos (Simon, 2006).

O suporte nutricional, além de ser importante nos pacientes oncológicos nos casos em que possa haver perda de apetite devido à toxicidade induzida pelo tratamento, também possibilita uma qualidade superior da dieta podendo levar a uma melhoria da condição geral do paciente e da sua qualidade de vida (Ogilvie, 2006). Nutrientes específicos podem ser utilizados como ferramentas poderosas para reduzir a toxicidade associada com a quimioterapia, radioterapia, e são importantes para melhorar a recuperação pós-cirúrgica (Ogilvie, 2006). A suplementação com aminoácidos como a glutamina, a cisteína e a arginina parece favorecer a eficácia dos agentes citostáticos, estimular a resposta imunitária anti-tumoral e potenciar a cicatrização dos tecidos (Ogilvie, 2006).

Também é importante ressaltar que além de tudo o que foi referido, também é de extrema importância o tratamento de problemas secundários subjacentes, tais como insuficiência renal ou doença cardíaca (Moore, 2006).

7. Prognóstico

De um modo geral, e segundo Argyle *et al.* (2008), o valor do tempo de sobrevida é de 10 a 12 meses, sendo o prognóstico em gatos machos semelhante ao prognóstico em gatas. Em relação a todos estes fatores mencionados, Morris & Dobson afirmam que o tamanho do tumor, o grau de diferenciação e a extensão da cirurgia realizada são os indicadores de prognóstico mais importantes.

Os estudos de prognóstico oncológico podem ser classificados em dois tipos, no que diz respeito às variáveis em estudo: análise univariável e análise multivariável, sendo este último o melhor método, posto que, ao considerar mais do que uma variável, permite identificar fatores de prognóstico independentes e portanto mais fiáveis quanto à sua significância (Misdorp, 2002).

O prognóstico é geralmente expresso como a percentagem de animais vivos em um ou dois anos posteriormente à realização de uma primeira mastectomia. No entanto, o período de sobrevida pode ser influenciado por vários fatores que não estejam diretamente relacionados com os tumores mamários. Por essa razão, muitos estudos optam pela avaliação do período pós-cirúrgico livre de doença (Misdorp, 2002).

O prognóstico para os tumores mamários da espécie felina é reservado, já que a maioria destes tumores são malignos, apresentando para além disso, um comportamento tipicamente invasivo (88% apresentam infiltração nos tecidos moles e 53% apresentam invasão vascular) sendo comuns as metástases (27% de metastização nos linfonodos regionais, 76% para os pulmões e 40% para a pleura) e a recidiva local (66%) (Weijer & Hart, 1983; Morris & Dobson, 2001; Misdorp, 2002).

A fim de analisar várias características de gatas com neoplasias mamárias, em busca de fatores de prognóstico significativos nesta espécie, um estudo estatístico foi efetuado com 202 gatas. Foram encontrados 35 fatores, dentre eles dados relacionados com a anamnese, dados clínicos e histológicos, dados relativos à terapêutica, os quais foram analisados em busca de relações com o tempo de sobrevida, recidiva local, e mesmo relações entre os próprios fatores. Foram encontrados assim 17 fatores relacionados com o tempo de sobrevida, e depois de realizado um estudo multivariável desses mesmos fatores, apenas 6 permaneceram fatores de prognóstico independentes: a idade, o diâmetro do tumor primário, a presença de linfonodos com infiltração neoplásica, o índice mitótico, a presença de necrose no tumor primário e a excisão cirúrgica. Segundo este estudo o prognóstico encontra-se agravado com o aumento da idade do animal e do diâmetro do tumor primário, com a presença de infiltração neoplásica a nível do linfonodos regionais, com a presença de um elevado índice mitótico bem como de uma grande quantidade de necrose, e com a excisão cirúrgica incompleta da massa tumoral. A causa de morte na maioria das gatas nesse estudo (61 %) foi associada a metástases, tumor recidivante, ou ambos (Weijer & Hart, 1983).

Outros estudos também se debruçaram sobre esses fatores chegando a conclusões semelhantes na maioria dos casos, havendo em outros alguns resultados um pouco discrepantes. Particularmente os resultados em relação à idade e a sua relação com o prognóstico são conflitantes. Vários estudos relatam que os gatos mais velhos têm um pior prognóstico, podendo esses resultados ser devido às diferenças a nível do tratamento ou diferenças no tamanho do tumor e estadiamento (Sorenmo *et al.*, 2013). É importante

ressaltar que, em um estudo, MacEwen *et al.* (1984) não encontrou nenhuma diferença de acordo com a idade quando se comparam os gatos que tinham mais ou menos que 10 anos (MacEwen *et al.*, 1984; Sorenmo *et al.*, 2013).

Num outro estudo foi demonstrado que o tamanho do tumor mamário parece ser o fator de prognóstico mais importante, visto que as gatas com tumores mamários de dimensões inferiores a 8 cm³ apresentaram um período livre de doença neoplásica e tempo médio de sobrevida superiores às gatas com tumores de maiores dimensões. De acordo com esse estudo, tumores pequenos (inferiores a 8 cm³ ou inferiores a 2 cm de diâmetro) podem ser eficazmente tratados apenas com cirurgia, apresentando um valor de mediana para o tempo de sobrevida de mais de 3 anos. As gatas com tumores de 8-27 cm³ ou entre 2 a 3 cm de diâmetro tiveram um tempo de sobrevida de 2 anos e as gatas com tumores maiores do que 27 cm³ ou maior do que 3 cm de diâmetro, tiveram um tempo de sobrevida de apenas 6 meses (MacEwen *et al.*, 1984). Segundo um estudo mais recente, gatas com carcinomas ou adenocarcinomas mamários com dimensões inferiores a 3 cm e superior a 3 cm, tiveram tempos de sobrevida de 21 e 12 meses, respetivamente (Viste, Myers, Singh, & Simko, 2002).

Além do tamanho dos tumores, a invasão linfática é um dos fatores de prognóstico que consistentemente afetam o tempo de sobrevida para os tumores mamários felinos (Thomson & Britt, 2012). Surpreendentemente poucos estudos avaliaram os linfonodos quanto ao seu significado prognóstico em gatas com tumores mamários (Sorenmo *et al.*, 2013). Em um estudo, o tempo de sobrevida sem invasão linfática foi de 863 dias *versus* 195 dias para os casos em que se verificou invasão linfática (Thomson & Britt, 2012). Como referido anteriormente, no estudo com 202 gatas, aquelas que apresentavam metástases nos linfonodos tiveram uma sobrevida significativamente menor do que as que não apresentavam (Weijer & Hart, 1983). Um estudo retrospectivo recente com 92 gatos apoia estes resultados, sendo que todos os gatos com metástases a nível dos linfonodos morreram nos primeiros 9 meses de diagnóstico (Seixas, Palmeira, Pires, Bento, & Lopes, 2011).

O estadio evolutivo da doença também é um importante fator de prognóstico (Argyle *et al.*, 2008).

Tal como foi referido anteriormente, os tumores mamários encontram-se classificados de acordo com o sistema TNM, sendo que este sistema de estadiamento implementado pela OMS permite estabelecer um ranking de tempos de sobrevida, visto que, cada uma das características que avalia, é indicadora de prognóstico (Moore, 2006). De acordo com Moore (2006), em um estudo da OMS obtiveram-se os seguintes resultados: estadio I – 29 meses; estadio II – 12,5 meses; estadio III – 9 meses; estadio IV – 1 mês (Moore, 2006). Segundo Argyle *et al.*, gatos que apresentem metástases à distância raramente sobrevivem mais de 2 meses.

De um modo geral, os carcinomas mamários felinos são conhecidos pelo seu prognóstico desfavorável devido a forte propensão para recorrência local e elevado potencial de metastização (Misdorp *et al.*, 1999). Os carcinomas com invasão local tendem a metastizar rapidamente para os linfonodos regionais (quer para os axilares ou esternais superficiais se forem as glândulas craniais as afetadas, como para o inguinal superficial se forem as glândulas caudais) e pulmões, apesar dos órgãos abdominais e ossos também poderem ser afetados (Morris & Dobson, 2001). Histologicamente a característica mais importante de um carcinoma, e que irá prever o seu comportamento e prognóstico, é se o mesmo é bem diferenciado e delimitado ou se é infiltrativo e invasivo (Morris & Dobson, 2001). Constituem-se então importantes fatores de prognóstico o tipo e o grau histológico de malignidade, determinado pelo grau de diferenciação, quantificação da anaplasia e índice mitótico dos carcinomas mamários das gatas (Argole *et al.*, 2008).

De acordo com Ogilvie (2005), as gatas que apresentem neoplasias bem diferenciadas e com baixos índices mitóticos tem maiores tempos de sobrevida do que aquelas cujas neoplasias sejam indiferenciadas. As gatas com tumores bem diferenciados sobrevivem em média 12 meses. Quanto ao índice mitótico, as neoplasias com um grande número de figuras mitóticas tem um menor tempo de sobrevida, 12,4 meses, relativamente aos 22,4 meses que se espera que as gatas com neoplasias mamárias com um baixo índice mitótico vivam (VSSO, 2008).

A extensão da recessão cirúrgica também é um importante fator de prognóstico. Segundo Argyle *et al.* (2008), 2/3 dos tumores mamários felinos vão reincidir após uma cirurgia menos invasiva (mastectomia simples ou regional), enquanto que os gatos submetidos a cirurgia mais invasiva (mastectomia uni ou bilateral) têm um maior intervalo livre de doença. Um estudo recente demonstrou melhorias significativas em relação ao tempo de sobrevida com a utilização de mastectomia bilateral, sendo este período de 917 dias *versus* 428 dias para aqueles com uma mastectomia regional e 348 dias para unilateral mastectomia (Novosad *et al.*, 2006) ($p=0,0271$).

Segundo MacEwen *et al.* (1984), em um estudo prospetivo, gatos da raça Europeu Comum tiveram um prognóstico significativamente melhor do que os gatos de raça pura, com carcinomas mamários. Outro estudo recente demonstrou que os siameses tiveram um prognóstico pior do que os gatos da raça Europeu Comum (Borrego *et al.*, 2009). Estes estudos podem, de facto, complementar-se mutuamente, no entanto, o primeiro estudo não fornecer informações sobre quantos siameses foram incluídos no grupo dos gatos de raça pura. Todavia, vários outros estudos não verificaram que a raça, quando considerando outros fatores, fosse um fator de prognóstico (Sorenmo *et al.*, 2013).

A fim de encontrar outros fatores de prognóstico com aplicações terapêuticas, têm sido investigados nos carcinomas mamários dos felinos um certo número de oncogenes

humanos e recetores, incluindo o HER2/neu e a proteína homóloga da fosfatase e tensina (PTEN).

A AKT, também conhecida como proteína-quinase B, é uma proteína quinase serina/treonina, que, ao ser ativada pela fosforilação (p-AKT), desempenha um papel decisivo na sobrevivência celular estando relacionada com múltiplos processos celulares, nomeadamente a apoptose, proliferação celular, transcrição e migração celular. A AKT é ativada por uma variedade de recetores de tirosina-quinase, incluindo EGFR1 e EGFR2/HER2. Segundo um estudo recente, a expressão de p-AKT está estatisticamente correlacionada com a diferenciação histológica, com a malignidade do tumor e a recorrência clínica, sendo que as gatas cujas neoplasias mamárias expressem p-AKT tem um menor período livre de doença do que aquelas com tumores p-AKT-negativos (Maniscalco *et al.*, 2012).

Considerando a PTEN, sabe-se que esta proteína participa em múltiplos mecanismos de defesa celular contra a transformação e progressão neoplásicas, regulando os níveis de um dos mensageiros responsáveis pela ativação da AKT (Ressel, Millanta, Caleri, Innocenti, & Poli, 2009; Maniscalco *et al.*, 2012). A perda de PTEN foi relatada em 76% dos casos de carcinomas mamários felinos, mostrando que gatas com tumores PTEN-negativos tiveram um pior prognóstico, estando a perda da expressão da proteína PTEN significativamente correlacionada com a invasão de vasos linfáticos (Ressel *et al.*, 2009).

A expressão do gene HER2 também tem sido considerada como fator prognóstico. Em medicina humana, o HER2 é um marcador de tumor que quando sobre-expresso e/ou amplificado é associado a um mau prognóstico em mulheres com tumores mamários (Soares *et al.*, 2013). Em um estudo em medicina veterinária, gatas com maior positividade para este gene, e cujo tratamento da neoplasia mamária consistiu apenas na remoção cirúrgica do mesmo, sobreviveram apenas 14,6 meses em média, face aos 18,7 meses que, em média as gatas com neoplasias negativas ao HER2 sobreviveram (Fan, 2007).

A E-caderina e β -catenina, moléculas de adesão celular, têm sido estudadas na carcinogénese e progressão dos tumores mamário felinos, uma vez que, a reduzida expressão destas moléculas em tumores mamários caninos tem sido associada a um mau prognóstico. Foi efetuado um estudo a fim de verificar se se procedia o mesmo nos tumores mamários felinos. Verificou-se que a expressão destas moléculas sofreu uma significativa diminuição nos tumores malignos comparativamente com a sua expressão no tecido mamário normal, lesões hiperplásicas, displásicas e neoplasias benignas. Todavia, não foi estipulada uma correlação com o tempo de sobrevivência para qualquer um destes dois marcadores, pelo que mais estudos neste âmbito carecem de ser efetuados (Zappulli *et al.*, 2012).

As Regiões Organizadoras Nucleolares Argirofílicas (AgNORs) são segmentos de ADN que codificam rARN, intimamente associados com nucléolos que contém um grupo de proteínas argirofílicas. Recentemente foi demonstrado que a avaliação semi-quantitativa de AgNORs

estava significativamente correlacionada com a sobrevivência pós-cirúrgica de um ano nos gatos com carcinoma mamário felino (Castagnaro *et al.*, 1998). Um elevado valor na contagem de AgNORs constitui-se assim um fator de mau prognóstico (Bergman, 2007). Vários estudos têm relatado que a contagem de AgNORs está relacionada com a proliferação celular. Em diversos tumores malignos humanos, as proteínas dos AgNORs correlacionaram-se com a percentagem de células em fase S e com a expressão imunohistoquímica do Ki-67 e do PCNA (Antígeno Nuclear de Proliferação Celular) (Castagnaro *et al.*, 1998).

O antígeno Ki-67 é uma proteína nuclear que está associada, e pode ser necessária, para a proliferação celular. Além disso, está também relacionada com a transcrição do ARN ribossomal e logo a sua inativação conduz à inibição da síntese do ARN ribossomal (Bullwinkel *et al.*, 2006). Um alto índice de proliferação (>25,2), determinado pela medição das células positivas ao Ki-67, parece ser um fator de mau prognóstico para as gatas submetidas a cirurgia (Castagnaro *et al.*, 1998).

Nas gatas a presença de infiltrados linfóides peri-tumorais também está associada a uma diminuição do período de sobrevida (Misdorp, 2002).

Outro fator fenotípico indicativo de mau prognóstico é a expressão do VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) (Millanta, Lazzeri, Vannozzi, Viacava, & Poli, 2002). Foram efetuados estudos para determinar o significado prognóstico, da expressão imunohistoquímica do VEGF em carcinomas mamários felinos. Verificou-se uma correlação entre a elevada percentagem de células positivas para o VEGF e um prognóstico desfavorável, podendo então este vir a ser um indicador de prognóstico fiável (Millanta *et al.*, 2002).

Elevados níveis de COX-2 também constituem-se fatores de mau prognóstico (Millanta *et al.*, 2006).

III. Estudo da patologia clínica de gatas com tumores mamários submetidas a quimioterapia com doxorrubicina

1. Objetivos

Na presente dissertação foi realizado um estudo retrospectivo respeitante à patologia clínica de gatas com tumores mamários submetidas a quimioterapia com doxorrubicina. Este estudo incidiu na análise epidemiológica dos animais com neoplasias mamárias, apresentados à consulta, desde o ano 2007 até ao ano 2013, no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, tendo-se procedido à caracterização desses tumores a nível histopatológico e quanto à sua metastização. Esta análise foi efetuada com intuito de avaliar a influência de algumas variáveis clínicas e histopatológicas (que serão referidas no material e métodos), no tempo de sobrevida e no intervalo livre de doença de gatas tratadas com quimioterapia adicionalmente à cirurgia, bem como as diferenças entre os dois grupos de tratamento (grupo 1- gatas tratadas cirurgicamente, e grupo 2- gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia), no que diz respeito ao tempo de sobrevida e intervalo livre de doença. Por fim foram comparados esses resultados com a literatura, de forma a avaliar o benefício da quimioterapia como adjuvante à cirurgia, no tratamento das neoplasias mamárias em gatas.

2. Material e Métodos

2.1. Abordagem

Os dados necessários à realização deste estudo foram auferidos através da consulta de registos e, na falta de alguma informação adicional, foi necessário contactar os respetivos donos por telefone.

Os dados anatomopatológicos foram obtidos através da consulta dos registos das análises histopatológicas, no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UL. Estas análises foram efetuadas a partir de material constituído por fragmentos representativos das amostras de glândulas mamárias extirpadas de forma cirúrgica, bem como, sempre que possível, por pelo menos um dos linfonodos regionais, sendo este material posteriormente remetido para o laboratório para processamento. É de ressaltar que nem sempre foram retirados os linfonodos axilares pelo que, nesses casos, não foi possível identificar se havia lesões nesses linfonodos, e por conseguinte verificar se havia metastização regional, dado que esta é avaliada pela presença de infiltração neoplásica nos linfonodos regionais. Todas as peças anatómicas foram sujeitas a exame histopatológico no Laboratório de Anatomia Patológica

da FMV-UL, e classificadas de acordo com o sistema de classificação de tumores da OMS (1999).

Quanto aos dados da história clínica do animal, estes foram obtidos através das fichas clínicas em papel ou base de dados armazenada num sistema de gestão de base de dados, que utiliza o software QVet®, no referido hospital, e através de telefonemas aos donos.

Com base em toda a informação recolhida foi criada uma base de dados no programa Microsoft Office Excel 2013® contendo todos os parâmetros mencionados anteriormente, e dividindo os 46 animais em dois grupos com base no tipo de tratamento: um grupo de gatas submetidas apenas a cirurgia (n=32) – grupo 1 – e outro grupo em que as gatas também foram submetidas a quimioterapia posteriormente à cirurgia (n=14) – grupo 2.

O protocolo quimioterápico utilizado nestes casos foi apenas constituído por um único agente quimioterápico, a doxorrubicina na dose de 25mg/m², por via IV, a cada 21 dias durante 5 sessões, sendo estas interrompidas nos casos em que as pacientes desenvolveram insuficiência renal. O intervalo livre de doença foi definido como sendo o intervalo de tempo entre a data da mastectomia e a recidiva do tumor, tanto local como metastática. O tempo de sobrevida foi definido como sendo o intervalo de tempo entre a data da cirurgia e a data da morte/eutanásia do animal. As gatas que se encontravam vivas foram censuradas na data em que se obteve essa informação.

2.2. Critérios de inclusão

A confirmação histológica de carcinoma mamário foi um critério de inclusão para este estudo, sendo que, dos relatórios histopatológicos, foram ainda recolhidos outros dados além do tipo histológico de tumor, nomeadamente o ano e número da análise, o grau de malignidade histológica, o seu tamanho em centímetros, se era ou não bem delimitado, número de nódulos (único/múltiplos), presença ou ausência de permeação vascular por células neoplásicas, metástases nos linfonodos regionais, sinais de necrose e ulceração cutânea. Em relação ao tipo histológico há que ter em conta que quer os tumores de tipo tubular, papilífero ou túbulo-papilífero foram todos denominados túbulo-papilíferos.

Outro critério de inclusão consistiu na possibilidade de obtenção de todos os dados da história clínica do animal. Estes consistiam: no nome do animal e do dono; raça; idade em anos; estado reprodutivo (inteiras, ovariectomizadas até um ano, inclusive, ou com mais de um ano); se tomou ou não contraceptivos orais regularmente; a data e a causa de morte/eutanásia; se teve ou não recidiva do tumor mamário e em que data ocorreu; o tipo de cirurgia (mastectomia parcial, unilateral total ou bilateral total) e se foi feita OVH em simultâneo com esse procedimento (no caso das gatas inteiras); se fez ou não quimioterapia, o número de sessões que fez e se desenvolveu insuficiência renal devido a

esse tratamento. A caracterização dos animais quanto ao género, não se revelou necessária, para este estudo, dado que se tratavam exclusivamente de fêmeas.

2.3. Análise estatística

De modo a proceder-se à análise estatística destes dados, recorreu-se a um programa de computador, o SPSS Statistics 20®. Para determinar diferenças entre grupos de tratamento, utilizou-se o teste exato de Fisher ou o teste de chi-quadrado para as variáveis categóricas. No caso das variáveis contínuas, recorreu-se ao teste de Mann-Whitney U para a sua análise. Os tempos de sobrevida e intervalo livre de doença foram obtidos utilizando o Método de Kaplan-Meier ou método do produto-limite comparando as diferenças entre grupos, com a utilização do teste de Log Rank. Esta análise univariada, permitiu também avaliar o valor de prognóstico para cada um dos parâmetros testados, no que diz respeito ao tempo de sobrevida e intervalo livre de doença no grupo das gatas submetidas a quimioterapia e cirurgia. Apenas foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Variáveis clínicas

No presente estudo foram incluídas 46 gatas com tumores histologicamente classificados como carcinomas mamários, das quais 32 gatas (69,6%) foram submetidas apenas a cirurgia, e 14 gatas (30,4%) foram submetidas a quimioterapia em adição à cirurgia.

As pacientes estudadas apresentavam idades entre os 5 e os 16 anos, aquando do diagnóstico de tumor mamário, com uma média de 11,61 anos de idade ao diagnóstico e mediana 12,00. No grupo 1 os animais apresentavam uma idade média de 11,81 e mediana 12,00, enquanto que no grupo 2 os valores apresentados foram 11,14 e 11,50 anos para a média e mediana, respetivamente. Não se verificaram diferenças significativas, relativamente à idade, entre os 2 grupos ($p=0,426$) [Tabela 3].

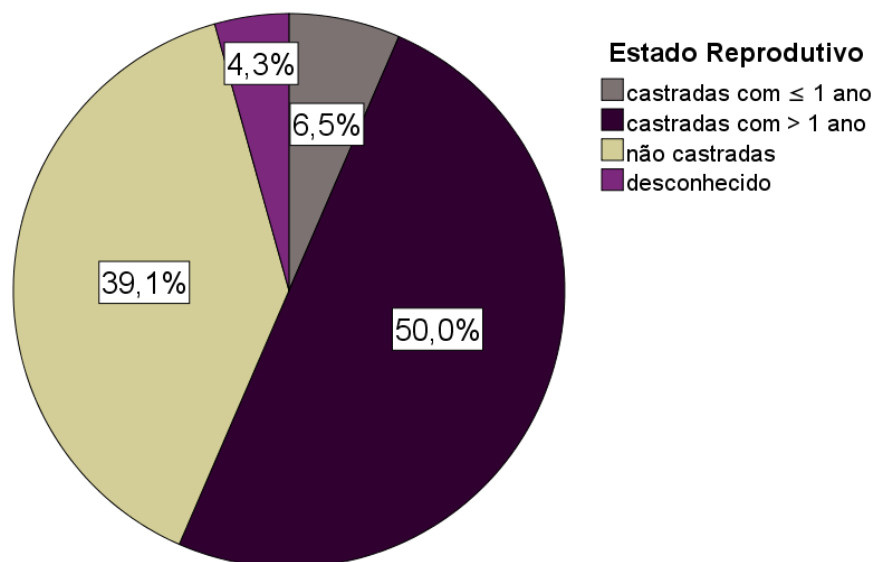
Tabela 3. Estatística descritiva da variável clínica: idade

	Total			Grupo 1			Grupo 2			P
	Média	Mediana	Desvio-padrão	Média	Mediana	Desvio-padrão	Média	Mediana	Desvio-padrão	
Idade (anos)	11,61	12,00	2,436	11,81	12,00	2,375	11,14	11,50	2,598	0,426

p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo. Grupo1 - gatas tratadas cirurgicamente;
Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia

Neste estudo havia quatro raças representadas, estando em maior número os Europeus Comuns (n=42; 91,3%), seguidos da raça Siamesa (n=2; 4,3%) e por fim, e em igual número, as raças Persa (n=1; 2,2%) e Bosque da Noruega (n=1; 2,2%). No grupo 1 havia 30 gatas (93,8%) da raça Europeu Comum, 1 gata Siamesa (3,1%) e 1 Bosque da Noruega (3,1%). No grupo 2 havia 12 Europeus Comuns (85,7%), 1 Siamês (7,1%) e 1 Persa (7,1%) Não se verificaram diferenças significativas entre os grupos relativamente a esta variável (p=0,398). [Tabela 4].

Quanto ao estado reprodutivo, no que diz respeito às gatas esterilizadas, 23 foram submetidas a OVH com mais de um ano (50,0%), 3 foram castradas até um ano de idade, inclusive (6,5%), 18 não haviam sido castradas até ao momento em que foram diagnosticadas com o tumor mamário (39,1%) e em 2 gatas não foi possível ter acesso a essa informação (4,4%) [Gráfico 1]. No grupo 1, 16 gatas foram castradas com mais de um ano (50,0%), 3 até um ano (9,4%) e 11 eram inteiras (34,4%). No grupo 2 metade (n=7; 50,0%) foram castradas com mais de um ano e a outra metade não estava esterilizada no momento de diagnóstico (n=7; 50,0%). Não se verificaram diferenças significativas entre os grupos relativamente a este aspeto (p= 0,399) [Tabela 4].

Gráfico 1. Estado reprodutivo dos animais em que surgiu tumor mamário

Quanto aos contraceptivos orais, de um modo geral, 47,8% (n=22) não tomaram contraceptivos orais regularmente, 37,0% (n=17) tomaram-na de um modo regular, não tendo sido possível obter essa informação para 15,2% (n=7) dos animais. Observando-se a distribuição destes animais pelos dois grupos constata-se que, no grupo 1, 12 gatas (37,5%) tomavam contraceptivos orais, 14 (43,8%) não tomavam, não havendo essa informação para os restantes animais desse grupo (n=6; 18,8%). No grupo 2, 5 gatas tomaram contraceptivos orais (35,7%), 8 não tomaram (57,1%), não se conseguindo obter essa informação sobre 1 animal (7,1%). Não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos quanto à utilização deste método contraceutivo (p=0,740) [Tabela 4].

Tabela 4. Distribuição da população quanto às variáveis clínicas

	Total		Grupo 1		Grupo 2		P
Variáveis clínicas	N	%	n	%	n	%	
Raça							
Europeu Comum	42	91,3	30	93,8	12	85,7	0,398
Siamês	2	4,3	1	3,1	1	7,1	
Persa	1	2,2	0	0,0	1	7,1	
Bosque da Noruega	1	2,2	1	3,1	0	0,0	
Estado Reprodutivo							
≤ 1 ano	3	6,5	3	9,4	0	0,0	0,399
> 1 ano	23	50,0	16	50,0	7	50,0	
Não castrada	18	39,1	11	34,4	7	50,0	
Desconhecido	2	4,4	2	0,0	0	0,0	
Contraceptivos orais							
Não	22	47,8	14	43,8	8	57,1	0,740
Sim	17	37,0	12	37,5	5	35,7	
Desconhecido	7	15,0	6	18,8	1	7,1	

A frequência é apresentada em percentagem. $p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. Grupo1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia.

3.2. Características tumorais

De um modo geral, quanto ao tipo de tumor, tendo em conta a classificação de acordo com o Sistema de Classificação de Tumores da OMS (1999), 41,3% dos tumores eram do tipo túbulo-papilífero (n=17), 41,3% do tipo cribriforme (n=17) e 17,4% do tipo sólido (n=12).

Quanto ao grau de malignidade histológica, de um modo geral, a maioria dos animais apresentava tumores de grau III de malignidade (n=38, 82,6%), seguindo-se os tumores de grau II (n=6, 13,0%) e por fim os de grau I (n=2, 4,4%).

O tamanho dos tumores, considerando a totalidade da população, foi em média de 2,9 cm, com valor de mediana de 3,0 cm, variando entre os 0,2-8,0 cm. A maioria dos tumores apresentava tamanho igual ou superior a 3 cm (54,4%).

Tendo em conta as gatas para as quais foi registada essa informação nos relatórios histopatológicos (n=44), 54,5% apresentava metástases nos linfonodos regionais e 45,5% não.

Quanto à permeação vascular, considerando as 44 gatas para as quais havia registo desse parâmetro, a percentagem de tumores com presença de permeação vascular foi de 27,3%, estando ausente em 72,7% das neoplasias mamárias.

A maioria dos tumores mamários, 60,9% (n=28), era multifocal enquanto que 39,1% (n=18) era unifocal.

37,0% (n=17) dos tumores não apresentava sinais de necrose e 63,0% (n=29) apresentavam zonas de necrose.

Quanto à ulceração, apenas 8 tumores (17,4%) apresentavam ulceração cutânea, sendo que os restantes 38 (82,6%) não se encontravam ulcerados.

Por fim, no que diz respeito ao facto dos tumores serem ou não bem delimitados, dos 27 tumores para os quais havia o registo dessa informação, apenas 7 eram bem delimitados (25,9%).

Tendo em conta que todos os valores de p apresentados na tabela 4 se encontram acima de 0,05, pode-se afirmar que não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos para nenhum dos parâmetros acima mencionados.

Tabela 5. Análise dos tumores mamários das gatas quanto as suas características

	Total		Grupo 1		Grupo 2		P
	n	%	n	%	n	%	
Tipo de tumor OMS							
Túbulo-papilífero	17	41,3	14	43,8	5	35,7	0,838
Cribriforme	17	41,3	13	40,6	6	42,9	
Sólido	12	17,4	5	15,6	3	21,4	
Grau de malignidade							
I	2	4,4	2	6,3	0	0	0,434
II	6	13,0	5	15,6	1	7,1	
III	38	82,6	25	78,1	13	92,9	
Tamanho do tumor (cm)							
< 2	11	21,7	6	18,8	5	35,7	0,236
≥ 2 - < 3	10	23,9	6	18,8	4	28,6	
≥ 3	25	54,4	20	62,4	5	35,7	
Necrose							
Não	17	37,0	11	34,4	6	42,9	0,742
Sim	29	63,0	21	65,6	8	57,1	
Ulceração							
Não	38	82,6	27	84,4	11	78,6	0,684
Sim	8	17,4	5	15,6	3	21,4	
Permeabilidade vascular							
Não	32	72,7	21	70,0	11	78,6	0,722
Sim	12	27,3	9	30,0	3	21,4	
Metástases nos linfonodos regionais							
Não	20	45,5	13	41,9	7	53,8	0,522
Sim	24	54,5	18	58,1	6	46,2	
Multifocal							
Não	18	39,1	14	43,8	4	28,6	0,513
Sim	28	60,9	18	56,2	10	71,4	
Delimitado							
Mal	20	74,1	10	71,4	10	76,9	1,000
Bem	7	25,9	4	28,6	3	23,1	

A frequência é apresentada em percentagem. $p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia.

3.3. Tratamentos

Relativamente ao tipo de cirurgia, de um modo geral, na sua maioria, as gatas foram submetidas a mastectomia unilateral total ($n=38$, 82,6%), seguindo-se a mastectomia bilateral total ($n=6$, 13,0%) e, por fim, a mastectomia parcial ($n=2$, 4,4%). No grupo 1 verificou-se que 28 gatas efetuaram uma mastectomia unilateral total (87,5%), enquanto que 3 foram submetidas a uma mastectomia bilateral total (9,4%) e apenas em 1 gata realizou-se uma mastectomia parcial (3,1%). No que diz respeito ao grupo 2, o número de animais submetidos a cirurgia foi 10 (71,4%), 3 (21,4%) e 1 (7,2%) no caso da mastectomia unilateral total, bilateral total e parcial, respetivamente. Não houve diferenças significativas entre os grupos no que diz respeito à extensão da cirurgia ($p=0,417$).

A mediana do intervalo de tempo decorrido entre a cirurgia e o início da quimioterapia foi de 51,5 dias (32-314 dias).

No que diz respeito às gatas tratadas com quimioterapia ($n=14$), nem todas completaram as 5 sessões. Constatou-se que 2 gatas realizaram 3 sessões (14,3%), 3 gatas fizeram 4 sessões (21,4%), 9 completaram o tratamento (64,3%) sendo que destas, 8 realizaram 5 sessões e 1 gata realizou dois tratamentos completos de quimioterapia, num total de 10 sessões.

Em todos os casos em que as gatas não completaram o tratamento ($n=5$), o motivo foi o desenvolvimento de insuficiência renal devido à nefrotoxicidade inerente à doxorrubicina. Por sua vez, dos 8 animais que desenvolveram insuficiência renal, 3 desenvolveram-na apenas após o término do tratamento quimioterápico.

3.4. Resultados clínicos

Considerando a totalidade dos animais, 18 gatas (39,1%) não tiveram recidiva enquanto 28 (60,9%) tiveram. No grupo 1 verificou-se que, em 34,4% ($n=11$) gatas o tumor não recidivou, enquanto que, em 65,6 % ($n=21$) já recidivou. No grupo 2 houve uma igual distribuição de número de casos com recidiva da neoplasia mamária ($n=7$, 50,0%) e sem recidiva mamária ($n=7$, 50,0%). Não se verificaram diferenças significativas entre os grupos quanto à recidiva do tumor mamário ($p= 0,345$).

A extensão da cirurgia não afetou de forma significativa a frequência com que o tumor recidivou em nenhum dos dois grupos ($p=0,373$, grupo 1; $p=0,420$, grupo 2) [Tabelas 6 e 7].

Tabela 6. Análise da relação entre a extensão da cirurgia e recidiva do tumor mamário no grupo 1 (gatas tratadas cirurgicamente)

			Recidiva		Total
			Não	Sim	
Cirurgia	Mastectomia unilateral total	N	9	19	28
		% Cirurgia	32,1%	67,9%	100,0%
		% Recidiva	81,8%	90,5%	87,5%
	Mastectomia bilateral total	N	1	2	3
		% Cirurgia	33,3%	66,7%	100,0%
		% Recidiva	9,1%	9,5%	9,4%
	Mastectomia parcial	N	1	0	1
		% Cirurgia	100,0%	0,0%	100,0%
		% Recidiva	9,1%	0,0%	3,1%
Total	N		11	21	32
	% Cirurgia		34,4%	65,6%	100,0%
	% Recidiva		100,0%	100,0%	100,0%

Tabela 7. Análise da relação entre a extensão da cirurgia e recidiva do tumor mamário no grupo 2 (gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia)

			Recidiva		Total
			Não	Sim	
Cirurgia	Mastectomia unilateral total	N	4	6	10
		% Cirurgia	40,0%	60,0%	100,0%
		% Recidiva	57,1%	85,7%	71,4%
	Mastectomia bilateral total	N	2	1	3
		% Cirurgia	66,7%	33,3%	100,0%
		% Recidiva	28,6%	14,3%	21,4%
	Mastectomia parcial	N	1	0	1
		% Cirurgia	100,0%	0,0%	100,0%
		% Recidiva	14,3%	0,0%	7,1%
Total	N		7	7	14
	% Cirurgia		50,0%	50,0%	100,0%
	% Recidiva		100,0%	100,0%	100,0%

Tendo em conta a totalidade dos animais, 17 gatas do grupo 1 e 9 do grupo 2 morreram/foram eutanasiadas por motivos relacionados com o tumor mamário. No caso dos 17 felinos do grupo 1, todos (100%) morreram/ foram eutanasiados devido a metástases à distância, enquanto que, no grupo 2, das 9 gatas consideradas, 4 (44,4%) morreram/foram eutanasiadas devido a metástases à distância, e as restantes 5 (55,6%), morreram por insuficiência renal causada pela quimioterapia. É de ressaltar ainda que, em outras 8 gatas do grupo 1, não foi possível apurar qual a sua causa de morte, existindo a possibilidade das mesmas terem morrido devido a outras causas que não inerentes à razão deste estudo, já que não tiveram nenhuma recidiva do tumor mamário, pelo que estas gatas correspondem aos casos de remissão com maiores tempos de sobrevida.

Para a análise do tempo de sobrevida, 10 gatas (6 gatas do grupo 1 e 4 gatas do grupo 2) foram censuradas, uma vez que ainda se encontravam vivas até ao último contacto efetuado com os donos. Relativamente a outras 2 gatas, uma de cada grupo, não foi possível saber se ainda estão vivas ou não pelo que também foram censuradas.

Devido ao menor número de casos resultantes da exclusão dos animais que se encontravam vivos, optou-se pela apresentação dos resultados tendo em conta o tempo de sobrevida em detrimento do intervalo livre de doença, no que diz respeito ao grupo de animais submetidos a quimioterapia, analisando o efeito de diversos fatores nesse intervalo [Tabela 8].

Relativamente à idade, observou-se que havia apenas uma gata com < 10 anos (11,1%), não tendo sido possível calcular o valor de mediana para o tempo de sobrevida desse subgrupo, tendo em conta a natureza da amostra. Os restantes animais (n=8, 88,9%), tinham idades ≥ 10 anos, e apresentaram um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 549 dias. Não se verificaram diferenças significativas entre as gatas com idade ≥ 10 anos e a gata com menos de < 10 anos, no que diz respeito ao tempo de sobrevida (p=0,285).

No que diz respeito à raça, o valor de mediana para o tempo de sobrevida foi de 840 para a raça Europeu Comum (n=7, 77,8%), 237 para a raça Persa (n=1, 11,1%) e 216 para a raça Siamesa (n=1, 11,1%). Não foram encontradas diferenças significativas relativamente às 3 raças, quanto ao tempo de sobrevida (p=0,132).

Para as gatas que não fizeram uso de contraceptivos orais de um modo regular (n=7, 77,8%), obteve-se um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 549 dias. No caso das gatas que fizeram uso desse contraceptivo oral regularmente (n=2, 22,2%), não foi possível obter um valor de mediana para o tempo de sobrevida, devido à natureza da amostra, ou seja, devido ao seu reduzido tamanho. Não se verificaram diferenças significativas entre os pacientes que tomaram contraceptivos orais e os que não tomaram, no que diz respeito ao tempo de sobrevida (p=0,542).

Tendo em conta os três tipos de tumores, segundo a classificação de tumores OMS (1999), para os tumores de tipo tubulo-papilífero (n=3, 33,3%) obteve-se um valor de mediana de

840 dias, enquanto que, para os tumores de tipo cribriforme (n=5, 55,6%) esse valor foi de 312 dias e para o tumor de tipo sólido (n=1, 11,1%) esse valor foi de 198 dias. Não se verificaram diferenças significativas entre os pacientes que apresentavam tumor do tipo túbulo-papilífero em detrimento dos que apresentavam tumor cribriforme ou sólido, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,906$).

No que diz respeito ao grau de malignidade histológica, não foi possível calcular os tempos de sobrevida para esse parâmetro, devido à natureza da amostra.

Quanto ao tamanho dos tumores, 2 gatas (22,2%) apresentavam tumores com < 2 cm de diâmetro, outras 4 pacientes (44,4%) apresentavam tumores com $\geq 2 - < 3$ cm, sendo que 3 gatas (33,3%) tinham tumores com dimensões ≥ 3 cm. Os valores de mediana para o tempo de sobrevida, segundo o método Kaplan-Meier, foram de 237 dias para os tumores com $\geq 2 - < 3$ cm e 216 dias para aqueles que eram ≥ 3 cm. Quanto aos tumores com < 2 cm, não foi possível estimar o valor de mediana para o tempo de sobrevida deste subgrupo, tendo em conta a natureza da amostra. Não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes com tumores < 2 cm, $\geq 2 - < 3$ cm ou ≥ 3 cm, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,212$).

Relativamente à necrose, nos casos em que se verificou a sua presença (n=5, 55,6%), o valor de mediana para o tempo de sobrevida foi de 840 dias enquanto que, para as gatas em cujos tumores não se verificou a presença de necrose (n=4, 44,4%), esse valor foi de 237 dias. Analisando o tempo de sobrevida para a presença ou ausência de necrose, não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes com tumores que apresentavam necrose face aos pacientes cujos tumores não a apresentavam ($p=0,485$).

No que diz respeito à ulceração cutânea, a maioria dos pacientes (n=8, 88,9%) não tiveram ulceração cutânea, apresentando um valor de mediana de 549 dias para o tempo de sobrevida. Para o subgrupo de pacientes cujos tumores apresentavam ulceração cutânea, não foi possível calcular esse valor tendo em conta a natureza da amostra. Não foram constatadas diferenças significativas entre os tumores com e sem úlcera cutânea, em relação ao tempo de sobrevida ($p=0,585$).

Relativamente à permeação vascular por células neoplásicas, o valor de mediana para o tempo de sobrevida foi de 840 dias para as gatas cujos tumores não apresentavam permeação vascular (n=7, 77,8%). Quanto aos animais em que se verificou presença de permeação vascular nos tumores mamários, estes tiveram um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 198 dias (n=2, 22,2%). Não se verificaram diferenças significativas entre os tumores com e sem permeação vascular, para o tempo de sobrevida ($p=0,120$).

No que diz respeito às metástases nos linfonodos regionais, 4 pacientes sem metástases regionais, isto é, 50,0%, apresentaram 1199 dias para o valor de mediana do tempo de sobrevida enquanto que os outros 4 animais com metástases regionais (50,0%), apresentaram o valor de 549 dias. Também para este parâmetro, no que diz respeito ao

tempo de sobrevida, não foram encontradas diferenças significativas entre as gatas com ou sem metástases nos linfonodos regionais ($p=0,410$).

Relativamente à extensão da cirurgia, o valor de sobrevida foi de 840 dias para os animais que fizeram mastectomia unilateral total ($n=6$, 66,7%), 549 dias para os que realizaram mastectomia bilateral total ($n=2$, 22,2%) e 198 dias para os que foram submetidos a uma mastectomia parcial ($n=1$, 11,1%). Não se verificaram diferenças significativas entre os diferentes tipos de cirurgia, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,088$).

Para os casos em que a OVH foi realizada aquando da mastectomia ($n=3$, 60%), verificou-se um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 312 dias face aos 776 dias relativos aos animais que não realizaram OVH simultaneamente à exérese do tumor mamário ($n=2$, 40%). No que diz respeito ao tempo de sobrevida, pode-se ainda constatar que não se verificaram diferenças significativas entre os pacientes que efetuaram OVH aquando da cirurgia mamária e os que não foram submetidos a esse procedimento nessa altura ($p=0,767$).

Por fim, tendo em conta o número de sessões de quimioterapia, obtiveram-se os seguintes valores de mediana para o tempo de sobrevida: 840 dias para as gatas que não completaram as 5 sessões de quimioterapia ($n=3$, 33,3%) e 549 dias para as que completaram todas as sessões do tratamento quimioterápico ($n=6$, 66,7%). Não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes que completaram as sessões de quimioterapia e os que não completaram, para o tempo de sobrevida ($p=0,980$).

Ao analisar estes mesmos fatores em estudo, no que diz respeito ao intervalo livre de doença, verificou-se que nenhum deles foi um fator de prognóstico, uma vez que, não foram encontradas diferenças significativas entre nenhum dos subgrupos dentro de cada um desses fatores, no que diz respeito a esse intervalo de tempo [Anexo 7].

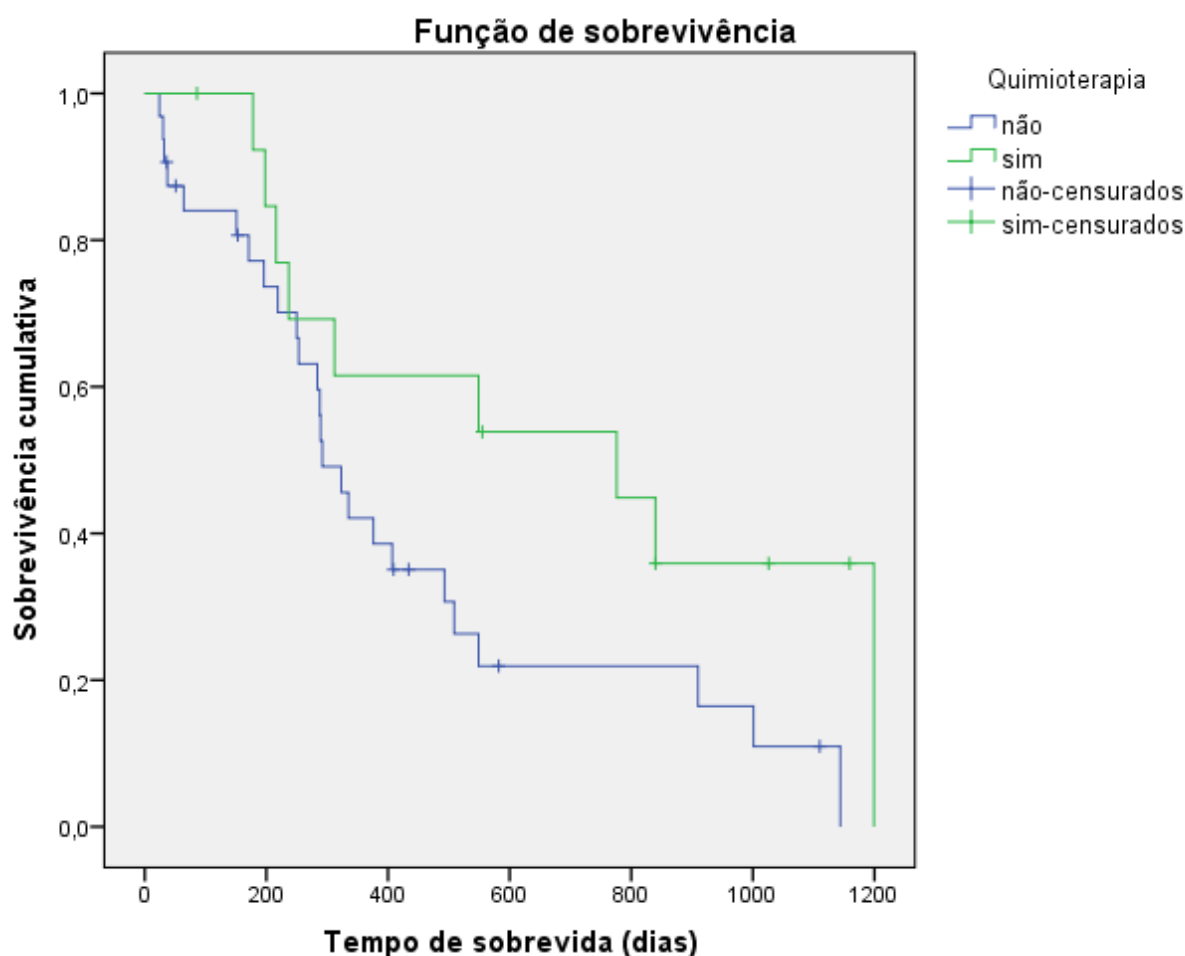
Tabela 8. Análise do efeito de diversos fatores no tempo de sobrevida de gatas com tumores mamários, pertencentes ao grupo 2 (gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia)

	n _i	n _f	Tempo de sobrevida	95% IC	P
Idade (anos)					
< 10	3	1	-*	-*	0,285
≥ 10	11	8	549	0,000 - 1291,390	
Raça					
Europeu Comum	12	7	840	420,436 - 1259,564	0,132
Persa	1	1	237	-*	
Siamês	1	1	216	-*	
Contracetivos orais					
Não	8	7	549	0,000 - 1192,071	0,542
Sim	5	2	-*	-*	
Tipo de tumor OMS					
Túbulo-papilífero	5	3	840	322,311 - 1357,689	0,906
Cribriforme	6	5	312	0,000 - 686,478	
Sólido	3	1	198	-*	
Tamanho do tumor (cm)					
< 2	5	2	-*	-*	0,212
≥ 2 - < 3	4	4	237	0,000 - 823,040	
≥ 3	5	3	216	0,000 - 559,980	
Necrose					
Não	6	4	237	121,776 - 352,224	0,485
Sim	8	5	840	523,904 - 1156,096	
Ulceração					
Não	11	8	549	0,000 - 1267,975	0,585
Sim	3	1	-*	-*	
Permeação vascular					
Não	11	7	840	78,729 - 1601,271	0,120
Sim	3	2	198	-*	
Metástases nos linfonodos regionais					
Não	7	4	1199	-*	0,410
Sim	6	4	549	40,144 - 1057,856	
Cirurgia					
Mastectomia unilateral total	10	6	840	165,341 - 1514,659	0,088
Mastectomia bilateral total	3	2	549	49,696 - 1048,304	
Mastectomia parcial	1	1	198	-*	
OVH na cirurgia					
Não	3	2	776	-*	0,767
Sim	4	3	312	0,000 - 638,340	
Sessões de Quimioterapia					
Incompletas	5	3	840	16,419 - 1663,581	0,980
Completas	9	6	549	0,000 - 1296,016	

Os resultados são valores de mediana do número de dias com 95% intervalo de confiança (IC); n_i – número total; n_f – número final resultante da censura dos casos; - * - Não foi possível estimar este valor tendo em conta a natureza da amostra; p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

Comparando os 2 grupos de tratamento em relação ao tempo de sobrevida, verificou-se que a diferença entre os mesmos tendia para a significância, sendo que o grupo 1 apresentou um valor de mediana de 292 dias para o tempo de sobrevida face aos 776 dias pertencentes aos animais do grupo 2 ($p=0,053$) [Gráfico 2].

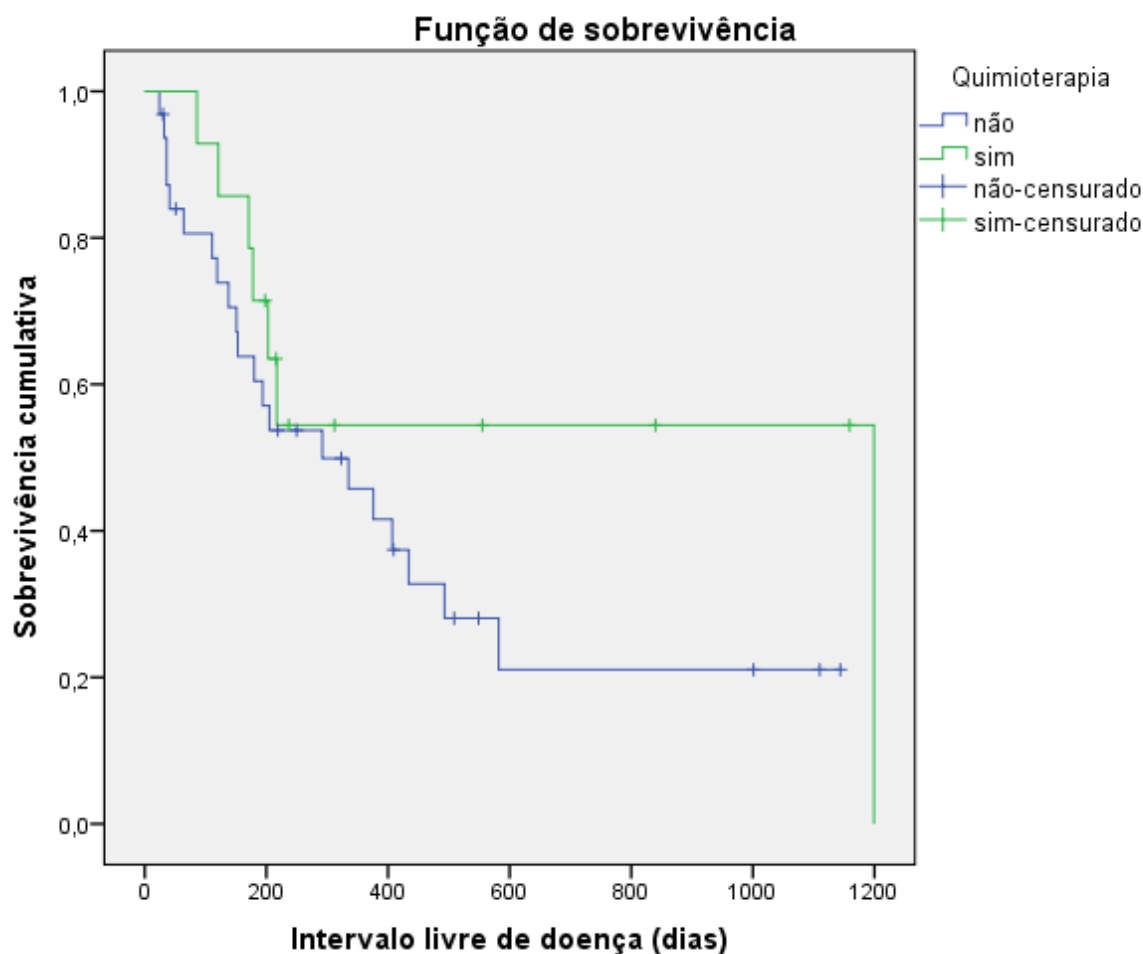
Gráfico 2. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais do grupo 1 e do grupo 2



$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. O valor da mediana para o tempo de sobrevida em dias para o grupo 1 ($n=25$) é de 292 e para o grupo 2 ($n=9$) é de 776 dias ($p=0,053$). Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia. Grupo 1-censurados – animais do grupo 1 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos. Grupo 2-censurados – animais do grupo 2 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos.

Analisando os dois grupos quanto ao intervalo livre de doença, constatou-se que o grupo 1 apresentou um valor de 292 dias enquanto que o grupo 2 apresentou um valor de 1199 dias. Não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos de tratamento ($p=0,200$) [Gráfico 3].

Gráfico 3. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o intervalo livre de doença dos animais do grupo 1 e do grupo 2



$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. O valor da mediana para o intervalo livre de doença em dias para o grupo 1 ($n=21$) é de 292 e para o grupo 2 ($n=7$) é de 1199 dias ($p=0,200$). Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia. Grupo 1-censurados – animais do grupo 1 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos. Grupo 2–censurados – animais do grupo 2 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos.

Comparando os dois grupos de tratamento (animais submetidos ou não a quimioterapia), em relação ao tempo de sobrevida, tendo em conta os diversos fatores analisados, não se verificaram diferenças significativas à exceção de dois subgrupos: o subgrupo da raça Europeu Comum e o subgrupo com presença de necrose [Anexo 8].

Quanto à raça, o subgrupo de gatas da raça Europeu Comum teve um valor de tempo de sobrevida significativamente maior no grupo 2 (840 dias) do que no grupo 1 (292 dias), ($p=0,022$). Relativamente à raça siamesa, não se verificaram diferenças significativas, a nível do tempo de sobrevida, entre os dois grupos ($p=0,317$).

Relativamente à necrose, ao comparar os grupos 1 e 2, verificaram-se diferenças significativas no subgrupo com presença de necrose. Para a presença de necrose, o grupo 2

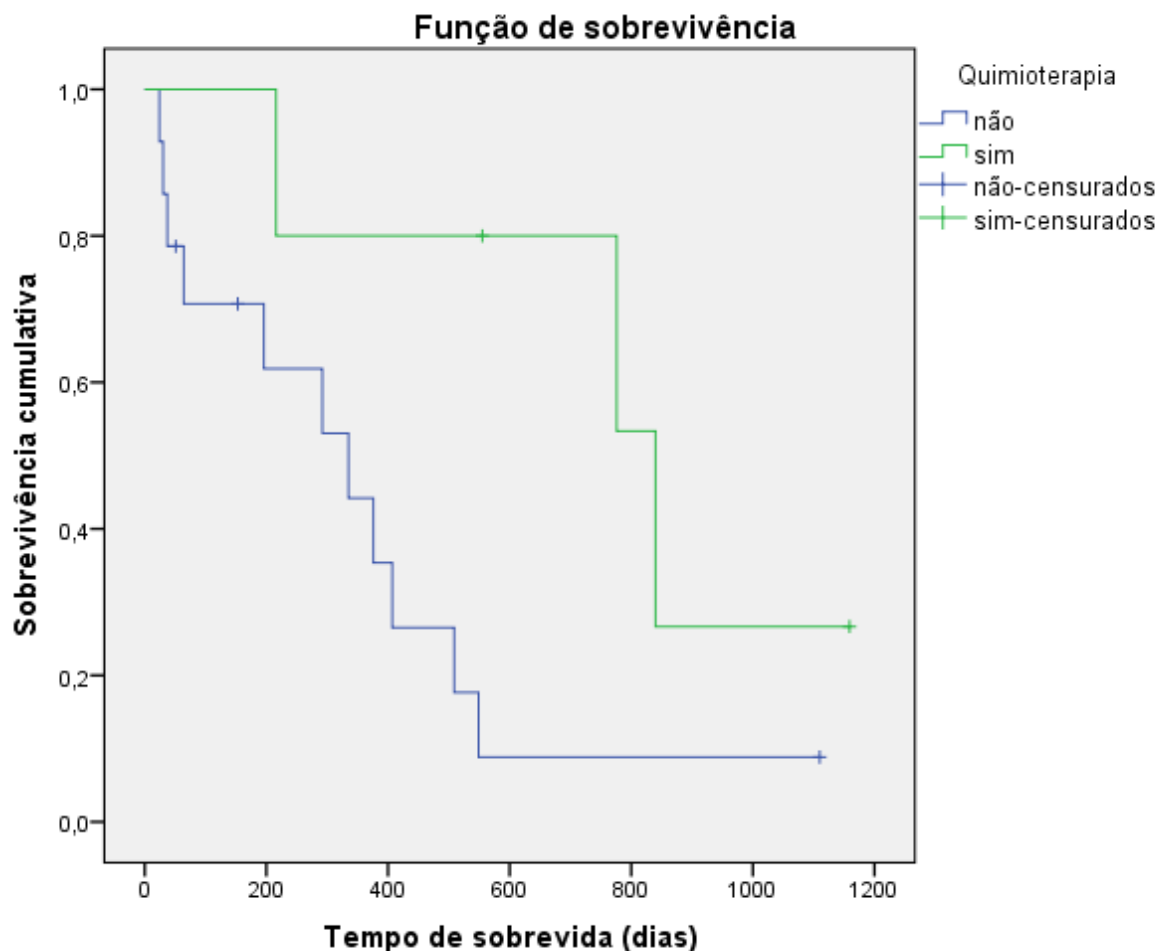
obteve um valor de tempo de sobrevida significativamente maior do que o grupo 1 (840 dias *versus* 284 dias, respectivamente, $p=0,043$). Relativamente ao grupo com ausência de necrose não se verificaram diferenças significativas, a nível do tempo de sobrevida, entre os dois grupos de tratamento ($p=0,852$).

Ainda no que diz respeito ao tempo de sobrevida, ao comparar os dois grupos de tratamento, verificou-se que a diferença entre os mesmos tendia para a significância em alguns subgrupos, nomeadamente no subgrupo de idade < 10 , no subgrupo de tumor do tipo túbulo-papilífero e no subgrupo cujos animais foram submetidos a mastectomia unilateral total [Anexo 9].

No que diz respeito ao subgrupo de idade < 10 anos, ao comparar os dois grupos de tratamento, verificou-se que a diferença entre eles tendia para a significância ($p= 0,059$), obtendo para o grupo 1 um valor de mediana de 292 dias para o tempo de sobrevida, porém, para o grupo 2, devido à natureza da amostra, não foi possível obter um valor de mediana para este tempo. No subgrupo de idade ≥ 10 , não se verificaram diferenças significativas, a nível do tempo de sobrevida, entre os dois grupos de tratamento ($p=0,210$).

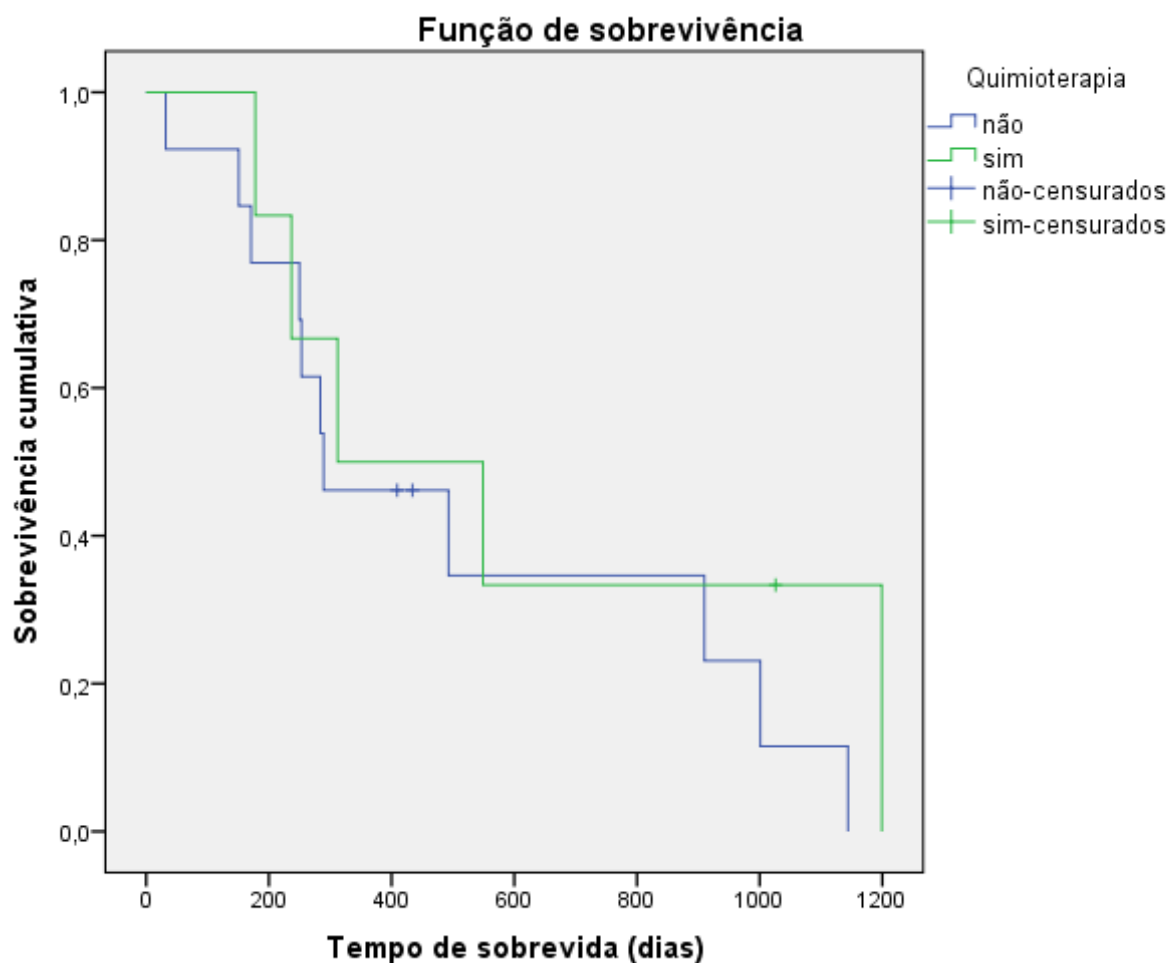
Relativamente ao tipo de tumor, o subgrupo de gatas com tumores de tipo túbulo-papilífero teve um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 335 dias no grupo 1, enquanto que no grupo 2 esse valor foi de 840 dias. A diferença do valor de mediana para o tempo de sobrevida das gatas com tumores do tipo túbulo-papilífero pertencentes ao grupo 1, e do valor de mediana para o tempo de sobrevida das gatas com tumores do tipo túbulo-papilífero pertencentes ao grupo 2, tendeu para a significância ($p= 0,060$) [Gráfico 4]. Relativamente aos outros tipos de tumores não se verificaram diferenças significativas, a nível do tempo de sobrevida, entre grupos 1 e 2 [Gráficos 5 e 6].

Gráfico 4. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo túbulo-papilífero, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2



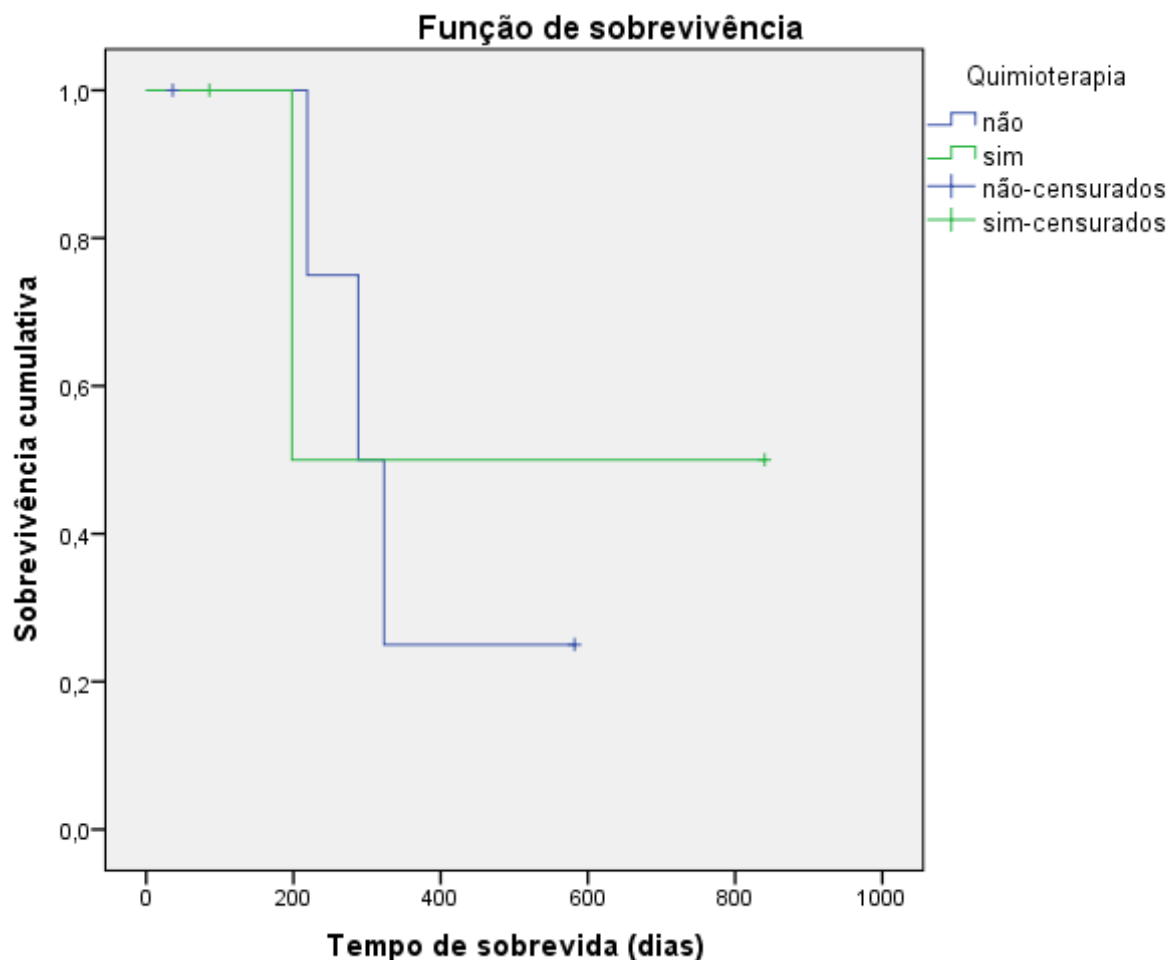
$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. O valor da mediana para o tempo de sobrevida em dias para os animais com tumores mamários do tipo túbulo-papilífero pertencentes ao grupo 1 ($n=11$) é de 335 e aos que pertencem ao grupo 2 ($n=3$) é de 840 dias ($p=0,060$). Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia. Grupo 1-censurados – animais do grupo 1 que foram censurados da análise, no momento em que se soube que se encontravam vivos. Grupo 2-censurados – animais do grupo 2 que foram censurados da análise, no momento em que se soube que se encontravam vivos.

Gráfico 5. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo cribriforme, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2



$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. O valor da mediana para o tempo de sobrevida em dias para os animais com tumores mamários do tipo cribriforme pertencentes ao grupo 1 ($n=11$) é de 289 e aos que pertencem ao grupo 2 ($n=5$) é de 312 dias ($p=0,353$). Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia. Grupo 1-censurados – animais do grupo 1 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos. Grupo 2-censurados – animais do grupo 2 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos.

Gráfico 6. Análise de sobrevivência Kaplan-Meier para o tempo de sobrevida dos animais com tumores mamários do tipo sólido, pertencentes ao grupo 1 e do grupo 2



$p < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo. O valor da mediana para o tempo de sobrevida em dias para os animais com tumores mamários do tipo sólido pertencentes ao grupo 1 ($n=3$) é de 288 e aos que pertencem ao grupo 2 ($n=1$) é de 198 dias ($p=0,896$). Grupo 1 - gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia. Grupo 1–censurados – animais do grupo 1 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos. Grupo 2–censurados – animais do grupo 2 que foram censurados da análise no momento em que se soube que se encontravam vivos.

Quanto ao subgrupo submetido a mastectomia unilateral total, este apresentou para o grupo 1 o valor de mediana de 335 dias para o tempo de sobrevida face as 840 dias apresentados para o grupo 2. A diferença entre estes valores de mediana tendeu para a significância ($p=0,055$). No que diz respeito ao subgrupo de animais que foram submetidos a mastectomia bilateral, não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos de tratamento ($p=0,110$).

Relativamente ao intervalo livre de doença, ao comparar os dois grupos de tratamento, também não se verificaram diferenças significativas excetuando dois subgrupos (subgrupo de idade < 10 anos e o subgrupo de tumores com ausência de necrose) [Anexo 9].

Ao comparar o fator idade, no subgrupo de gatas com idade < 10 anos não foi possível estimar o intervalo livre de doença para cada um dos grupos devido à natureza da amostra, todavia, verificaram-se diferenças significativas entre eles ($p=0,025$). No subgrupo de idade ≥ 10 anos não se verificaram diferenças significativas, para este intervalo de tempo, entre os grupos 1 e 2 ($p=0,837$).

Relativamente à necrose, ao comparar os grupos 1 e 2, verificaram-se diferenças significativas no subgrupo cujos tumores não apresentavam necrose ($p=0,023$). O grupo 1 apresentou um valor de mediana para o intervalo livre de doença de 292 dias, contudo, não foi possível obter um valor de mediana para os animais do grupo 2, devido à natureza da amostra. Para a presença de necrose, não se verificaram diferenças significativas, a nível do intervalo livre de doença, entre os dois grupos de tratamento ($p=0,837$).

4. Discussão

Até à data a quimioterapia tem sido recomendada para o tratamento de tumores mamários das gatas. Contudo, ainda existem pouquíssimos estudos que tenham avaliado os reais benefícios desta forma de tratamento adjuvante, pelo que com este estudo questiona-se em parte o seu real poder benéfico.

Em comparação com os resultados apresentados por outros estudos, no que diz respeito aos animais submetidos a quimioterapia, o tempo obtido para o intervalo livre de doença no presente estudo (1199 dias) foi superior, quer em relação aos 676 dias obtidos pelo estudo de McNeill *et al.* (2009), quer aos 255 dias apresentados por Novosad *et al.* (2006) para esse mesmo intervalo. Quanto ao tempo de sobrevida, neste estudo o valor que se obteve foi de 776 dias sendo este valor inferior ao referido por McNeill *et al.* (2009), porém superior ao apresentado por Novosad *et al.* (2006), 848 dias e 448 dias, respetivamente. Neste estudo não foi comprovado um claro benefício relativamente à utilização da quimioterapia, tal como nos estudos mencionados, contudo, ao comparar o tempo de sobrevida para os dois grupos de tratamento, verificou-se que a diferença entre os mesmos tendia para a significância, havendo maiores tempos de sobrevida para os animais tratados com quimioterapia como adjuvante à cirurgia (776 dias no grupo 2 *versus* 292 dias no grupo 1) ($p=0,053$). Estes resultados podem não indicar claros benefícios também pelo facto de haver grande variabilidade de resultados entre os indivíduos dentro de cada grupo, demonstrada pelos intervalos de confiança demasiado abrangentes.

Neste estudo, os dois grupos de tratamento eram equivalentes, tendo em conta que, feitas as avaliações das variáveis clínicas e das características tumorais não foram encontradas diferenças significativas relativamente às suas distribuições nos dois grupos.

Ao comparar o grupo de gatas submetidas a mastectomia e a quimioterapia com o grupo de gatas que apenas fizeram mastectomia, não foi possível constatar um grande benefício em

relação à utilização do tratamento quimioterápico quanto ao tempo de sobrevida. Contudo, ao comparar esses dois grupos, verificaram-se diferenças significativas relativamente aos seguintes subgrupos: o subgrupo da raça Europeu Comum e o subgrupo com presença de necrose. Nestes subgrupos os animais que efetuaram quimioterapia obtiveram tempos de sobrevida significativamente maiores do que os que não fizeram uso da quimioterapia como parte do seu tratamento. O subgrupo de gatas da raça Europeu Comum teve um valor de tempo de sobrevida de 840 dias com quimioterapia e de 292 dias sem ($p=0,022$), e no subgrupo com presença de necrose, as gatas tratadas com quimioterapia tiveram um valor de mediana para o tempo de sobrevida de 840 dias face aos 284 dias apresentados por aquelas que apenas realizaram cirurgia ($p=0,043$).

Ainda no que diz respeito à comparação dos dois grupos de tratamento relativamente ao tempo de sobrevida, verificou-se que a diferença entre os mesmos tendia para a significância em três subgrupos, nomeadamente no subgrupo de idade < 10 ($p=0,059$), no subgrupo de tumor do tipo túbulo-papilífero ($p=0,060$) e no subgrupo em que os animais foram submetidos a mastectomia unilateral total ($p=0,055$), sendo que, nestas situações, os animais que realizaram a quimioterapia apresentaram maiores valores de mediana para o tempo de sobrevida do que os que foram tratados apenas cirurgicamente.

Comparando os dois grupos de tratamento em relação ao intervalo livre de doença, tendo em conta os diversos fatores em estudo, não se verificaram diferenças significativas à exceção de dois subgrupos (subgrupo de idade < 10 anos e o subgrupo de tumores com ausência de necrose). No subgrupo de gatas com idade < 10 anos não foi possível estimar o intervalo livre de doença para cada um dos grupos devido à natureza da amostra, todavia, verificaram-se diferenças significativas entre eles ($p=0,025$). No subgrupo de idade ≥ 10 anos não se verificaram diferenças significativas, quanto ao intervalo livre de doença, entre os dois grupos de tratamento ($p=0,837$). Relativamente à necrose, ao comparar os grupos 1 e 2, verificaram-se diferenças significativas no subgrupo cujos tumores não apresentavam necrose ($p=0,023$), sendo que para o grupo 1 obteve-se um valor de mediana de 292 dias para o intervalo livre de doença. Quanto ao valor de mediana do intervalo livre de doença dos animais do grupo 2, este não foi possível estimar devido à natureza da amostra. Para a presença de necrose, não se verificaram diferenças significativas, a nível deste intervalo de tempo, entre os dois grupos de tratamento ($p=0,837$).

A idade média das gatas, 11,61 anos, aquando do diagnóstico do tumor mamário neste estudo, está de acordo com o que foi mencionado previamente por outros autores. Segundo Argyle *et al.* (2008), as neoplasias de glândula mamária surgem em animais com uma idade média de 10 a 12 anos. Contudo, no presente estudo, os resultados relativos a idade não estão totalmente de acordo com os estudos anteriores, isto porque na bibliografia consta que os gatos mais velhos têm um pior prognóstico (Sorenmo *et al.*, 2013), o que não foi observado neste estudo, uma vez que, não se verificaram diferenças significativas entre as

gatas com idade ≥ 10 anos e a gata com menos de < 10 anos, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,285$).

Quanto à raça, neste estudo as neoplasias mamárias surgiram predominantemente nas gatas de raça Europeu Comum (91,3%), afetando apenas 4,3% de Siamesas, o que não está totalmente de acordo com o referido pela literatura. Segundo os autores, apesar dos tumores mamários poderem surgir em qualquer raça, a raça siamesa apresenta um maior risco de incidência destes tumores (Argyle *et al.*, 2008). Segundo um estudo efetuado por Borrego *et al.*, 2009 os siameses tiveram inclusivamente um prognóstico pior do que os gatos de raça Europeu Comum. Todavia, vários outros estudos não verificaram que a raça fosse um fator de prognóstico (Sorenmo *et al.*, 2013), o que está de acordo com os resultados do presente estudo, visto que não foram encontradas diferenças significativas relativamente às 3 raças, quanto ao tempo de sobrevida ($p=0,132$).

Quanto ao estado reprodutivo, metade das gatas com tumor mamário (50,0% da população em estudo) foram esterilizadas tardiamente (com mais de um ano de idade), sendo que um grande número nunca tinha sido esterilizado (39,1%). Apenas uma pequena percentagem das pacientes, 6,5%, é que realizou OVH até um ano de idade. Este facto só vem corroborar a hipótese, já afirmada na literatura, de que a ovariectomia quando realizada precocemente exerce um efeito protetor considerável contra os carcinomas mamários (Misdorp, 2002), recomendando-se assim que seja efetuada antes do primeiro ano de vida (Argyle *et al.*, 2008).

No que diz respeito à utilização de contraceptivos orais, a maioria dos animais com tumores mamários, 47,8% não tomaram a contraceptivos orais regularmente, enquanto que 37,0% tomavam. Contudo é importante ter em conta que não foi possível saber a informação respeitante a este aspeto em 15,2% dos animais da amostra, pelo que o número de animais a fazerem uso desse contraceptivo oral poderia ter sido maior, já estando de acordo com o que foi afirmado por outros autores, isto é, que uma administração regular e prolongada destas substâncias leva ao desenvolvimento de tumores mamários malignos (Misdorp *et al.*, 1991). Neste estudo, não se verificaram diferenças significativas entre os pacientes que tomaram contraceptivos orais e os que não tomaram, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,542$).

Quanto ao tipo de tumor, não se verificaram diferenças significativas entre os pacientes que apresentavam tumor do tipo túbulo-papilífero em detrimento dos que apresentavam tumor cribriforme ou sólido, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,906$). De igual modo, não se verificaram diferenças significativas para o tipo de tumor quanto ao intervalo livre de doença ($p=0,943$). Todavia, no estudo efetuado por Novosad *et al.* (2006), os tumores tubulares apresentaram maior tempo de intervalo livre de doença, constatando-se assim um fator de prognóstico (> 1131 dias; $p=0,0057$).

Quanto ao grau de malignidade histológica, apesar de não ter sido possível calcular o tempo de sobrevida nem o intervalo livre de doença para esse parâmetro, devido à natureza da amostra, de acordo com a literatura o grau histológico de malignidade constitui um fator de prognóstico importante (Argyle *et al.*, 2008). No estudo de Novosad *et al.* (2006) pacientes com elevado grau de malignidade tiveram um valor de intervalo livre de doença de 95 dias enquanto que neste estudo as gatas com carcinomas de grau III tiveram um intervalo de 217 dias.

Para o tamanho do tumor não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes com tumores < 2 cm, ≥ 2 - < 3 cm e ≥ 3 cm, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,212$), nem no que diz respeito ao intervalo livre de doença ($p=0,927$). Todavia segundo a literatura, o tamanho do tumor é um dos, senão o mais importante, fator de prognóstico (MacEwen *et al.*, 1984). No estudo de Novosad *et al.* (2006), o tamanho dos tumores foi considerado um importante fator de prognóstico, sendo que os animais com tumores < 2 cm, 2 - 3 cm e > 3 cm tiveram um valor para o tempo de sobrevida de 450, 448 e 200 dias, respetivamente ($p=0,0289$). É de ressaltar que, uma vez que, neste estudo, a maioria dos animais apresentavam tumores com ≥ 3 cm de diâmetro, teoricamente, dado que o tamanho do tumor tem sido apontado como um fator de prognóstico negativo, era de se esperar que estes tumores fossem os que mais beneficiassem da quimioterapia, já que os tumores mais pequenos teriam bom prognóstico exclusivamente com a cirurgia. Esta falta de concordância com o esperado poderá ser explicada pelo número limitado de casos.

No que diz respeito às metástases nos linfonodos regionais, não foram encontradas diferenças significativas, na análise do tempo de sobrevida, entre as gatas com e sem metástases nos linfonodos regionais ($p=0,410$). Relativamente ao tempo de intervalo livre de doença também não foram encontradas diferenças significativas ($p=0,489$). Contrariamente a esses achados, no estudo de Novosad *et al.* (2006), as gatas que apresentaram metástases tiveram tempo de sobrevida e intervalo livre de doença significativamente menores do que as que não apresentavam (tempo de sobrevida: 331 dias *versus* >2100 dias, $p=0,0001$; intervalo livre de doença: 183 dias *versus* >1700 dias, $p=0,0004$), sendo assim este parâmetro considerado um fator de prognóstico.

A nível da permeação vascular por células neoplásicas, tal como nos restantes parâmetros, não se verificaram diferenças significativas entre os tumores com e sem permeação vascular, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,120$), nem quanto ao intervalo livre de doença ($p=0,157$). No entanto, segundo Novosad *et al.* (2006), este parâmetro constitui-se um fator de prognóstico para o intervalo livre de doença. Animais com tumores com permeação vascular apresentaram 222 dias de intervalo livre de doença face aos 428 dias dos animais em cujos tumores não havia permeação vascular ($p=0,0492$).

Relativamente à necrose, no que diz respeito ao tempo de sobrevida bem como ao intervalo livre de doença, não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes com

tumores com necrose face aos pacientes cujos tumores não apresentavam necrose ($p=0,485$; $p=0,090$, respetivamente). Segundo Weijer & Hart, (1983) o prognóstico para o tempo de sobrevida encontra-se agravado com a presença de uma grande quantidade de necrose.

Para a ulceração cutânea, não foram observadas diferenças significativas entre os tumores com úlcera cutânea e sem úlcera cutânea, quer em relação ao tempo de sobrevida ($p=0,585$) quer para o intervalo livre de doença ($p=0,651$), não havendo informação relativa a este parâmetro na literatura consultada.

No que diz respeito à extensão da cirurgia, apesar de neste estudo não se verificarem diferenças significativas entre os diferentes tipos de cirurgia, no que diz respeito ao tempo de sobrevida ($p=0,088$), Novosad *et al.* (2006) demonstrou que a mastectomia bilateral exerce um impacto positivo sobre o tempo de sobrevida além do seu impacto no intervalo livre de doença. No seu estudo os animais apresentaram para o tempo de sobrevida um valor de 917 dias com a utilização de mastectomia bilateral *versus* 428 dias para os pacientes submetidos a uma mastectomia regional e 348 dias para os que realizaram mastectomia unilateral ($p=0,0271$). Todavia no presente estudo não foi possível confirmar esse benefício.

Quanto ao número de sessões de quimioterapia, 64,3% das gatas completaram o tratamento quimioterápico, sendo que 35,7% interromperam-no devido ao desenvolvimento de insuficiência renal. Este achado é consistente com a literatura, no que diz respeito à ação toxica deste quimioterápico. Considerando o número de sessões em relação ao seu efeito no tempo de sobrevida, não foram encontradas diferenças significativas entre os pacientes que completaram as sessões de quimioterapia e os que não completaram ($p=0,980$). Quanto ao intervalo livre de doença, também não se verificaram diferenças significativas ($p=0,497$). Pelo contrário, no estudo de Novosad *et al.* (2006), constatou-se que as gatas que completaram a totalidade das sessões de quimioterapia tiveram um intervalo livre de doença significativamente maior do que as que não completaram (442 dias *versus* 104 dias; $p=0,0002$), constituindo-se este, um fator de prognóstico.

A nível crítico, pode dizer-se que todos estes resultados podem não ter ido de acordo com o esperado, daquilo que se conhece da literatura, pelo facto de ter havido algumas limitações do próprio estudo que poderão ter influenciado esses mesmos resultados, pelo que os mesmos não são considerados achados universais. O próprio carácter retrospectivo deste estudo tornou-se um problema na medida em que nem todos os dados pretendidos se encontravam disponíveis na ficha clínica do animal. Deste modo foi necessário contactar os donos, obtendo informações que por vezes nem sempre são tão completas quanto se pretende. O seguimento dos animais também não foi efetuado em intervalos padronizados e o intervalo de tempo em média ocorrido desde a cirurgia até ao início das sessões de quimioterapia não foi o mesmo para todos os pacientes (32-314 dias), pelo que também

poderá ter influenciado os resultados, já que, nos animais em que esse intervalo de tempo foi maior, o mesmo poderá ter permitido o desenvolvimento de micrometastases. O tamanho da amostra constituiu igualmente um problema, já que, além de já ser inicialmente reduzida, em determinados subgrupos revelou-se ainda menor devido ao número de animais censurados da análise, agravando-se ainda mais este aspeto. Este poderá ter sido um dos motivos pelos quais não se identificaram certos fatores como sendo fatores de prognóstico para o tempo de sobrevida. Igualmente estas mesmas razões poderão ter impossibilitado a confirmação do benefício da quimioterapia, pelo que estes resultados devem ser interpretados com alguma reserva.

De um modo geral, estes resultados sugerem que o uso da quimioterapia adjuvante com doxorrubicina, como forma de tratamento das neoplasias mamárias de gatas com carcinomas mamários, carece de uma melhor investigação para determinar-se com mais exactidão o seu real poder benéfico. É assim necessária a realização de um estudo prospetivo a fim de definir mais claramente o papel da quimioterapia no tratamento destes tumores. Além disso, possíveis fatores de prognóstico adicionais devem ser considerados, tais como o estadiamento dos tumores, realizando-se também uma análise multivariável com todos esses mesmos fatores.

5. Conclusão

Comparando os dois tipos de tratamento, de um modo geral, em relação ao tempo de sobrevida, verificou-se que a diferença entre eles tendia para a significância, apresentando os animais com quimioterapia um maior tempo de sobrevida. Não se verificaram diferenças significativas entre os dois grupos, de um modo global, no que diz respeito ao intervalo livre de doença, nem foram encontrados fatores de prognóstico no grupo dos animais submetidos a quimioterapia. Este estudo, ainda que com todas as suas limitações, as quais possivelmente não permitiram obter os resultados previstos, demonstra contudo que caminha-se em direção a um possível poder benéfico da quimioterapia, pelo que mais estudos prospetivos devem ser feitos no sentido de determinar com maior clareza esses mesmos benefícios, ou mesmo dar continuidade ao presente estudo, uma vez que vários animais ainda se encontram vivos, pelo que, novas conclusões poderão advir dos seus tempos de sobrevida aquando da sua morte.

IV. Bibliografia

- Allen, S. W., Prasse, K. W., & Mahaffey, E. A. (1986). Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 23, 649–655.
- Allred, D. C., Clark, G. M., Elledge, R., Fuqua, S. A. W., Brown, R. W., Chamness, G. C., McGuire, W. L. (1993). Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 85, 200–206.
- Argyle, D. J., Turek, M. M., & McDonald, V. (2008). Canine and feline mammary tumors. In D. J. Argyle, M. J. Brearley & M. M. Turek (Eds.), *Decision making in small animal oncology*. (pp. 327–335). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Belehradek, J., Jr, Orlowski, S., Ramirez, L. H., Pron, G., Poddevin, B., & Mir, L. M. (1994). Electroporation of cells in tissues assessed by the qualitative and quantitative electroloading of bleomycin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1190, 155–163.
- Benazzi, C., Sarli, G., Galeotti, M., & Marcato, P. S. (1993). Basement membrane components in mammary tumours of the dog and cat. *Journal of Comparative Pathology*, 109, 241–252.
- Bergman, P. J. (2007). Mammary gland tumors. In L. A. V. Conference (Ed.), *The Latin American Veterinary Conference, Lima, Perú, 2007*. Lima, Perú: LAVT.
- Borrego, J. F., Cartagena, J. C., & Engel, J. (2009). Treatment of feline mammary tumours using chemotherapy, surgery and a COX-2 inhibitor drug (meloxicam): a retrospective study of 23 cases (2002-2007)*. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 213–221.
- Bullwinkel, J., Baron-Lühr, B., Lüdemann, A., Wohlenberg, C., Gerdes, J., & Scholzen, T. (2006). Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *Journal of Cellular Physiology*, 206, 624–635.
- Castagnaro, M., De Maria, R., Bozzetta, E., Ru, G., Casalone, C., Biolatti, B., & Caramelli, M. (1998). Ki-7 index as indicator of the post-surgical prognosis infeline mammary carcinomas. *Research in Veterinary Science*, 65, 223–226.
- Cemazar, M., Miklavcic, D., Scancar, J., Dolzan, V., Golouh, R., & Sersa, G. (1999). Increased platinum accumulation in SA-1 tumour cells after in vivo electrochemotherapy with cisplatin. *British Journal of Cancer*, 79, 1386–1391.
- Cemazar, M., Tamzali, Y., Sersa, G., Tozon, N., Mir, L. M., Miklavcic, D., Teissie, J. (2008). Electrochemotherapy in veterinary oncology. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 826–831.
- Crump, K., & Thamm, D. H. (2011). Chemotherapy agents. In K. Crump & D. Thamm (Eds.), *Cancer chemotherapy for the veterinary health team*. (pp. 83–87). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Da Silva, A.E., Serakides, R. & Cassali, G.D. (2004). Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes. *Ciência Rural*, 34 , 625-633.
- De las Mulas, J Martin, van Niel, M., Millán, Y., Blankenstein, M. A., van Mil, F., & Misdorp, W. (2000). Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in feline mammary

gland benign and malignant lesions: comparison with biochemical assay. *Domestic Animal Endocrinology*, 18, 111–125.

- De las Mulas, J. Martín, Van Niel, M., Millán, Y., Ordás, J., Blankenstein, M. A., Van Mil, F., & Misdorp, W. (2002). Progesterone receptors in normal, dysplastic and tumorous feline mammary glands. Comparison with oestrogen receptors status. *Research in Veterinary Science*, 72, 153–161.
- De Maria, R., Maggiora, P., Biolatti, B., Prat, M., Comoglio, P. M., Castagnaro, M., & Di Renzo, M. F. (2002). Feline STK gene expression in mammary carcinomas. *Oncogene*, 21, 1785–1790.
- Dorn, C. R., Taylor, D. O., Frye F. L. & Hibbard, H. H. (1968). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California: I. Methodology and description of cases. *Journal of the National Cancer Institute*, 40, 295–305.
- Dorn, C. R., Taylor, D. O., Schneider, R., Hibbard, H. H., & Klauber, M. R. (1968). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *Journal of the National Cancer Institute*, 40, 307–318.
- Elston, C.W., Ellis, I.O., 1998. Assessment of histological grade, 3rd ed.. In: Elston, C.W., Ellis, I.O. (Eds.), *Systemic Pathology – The Breast*, vol. 13 Churchill and Livingstone, London, UK, pp. 365–384.
- Fan, T. M. (2007). Feline mammary tumors: current and future therapies. Acedido a 10 de setembro de 2013, de <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/277.asp?LA=1>
- Feldman, D. G., & Gross, L. (1971). Electron microscopic study of spontaneous mammary carcinomas in cats and dogs: virus-like particles in cat mammary carcinomas. *Cancer Research*, 31, 1261–1267.
- Fossum, T. W. (2013). Surgery of the reproductive and genital systems. In T. W. Fossum, C. W. Dewey, C. V. Horn, A. I. Johnson, C. M. MacPhail, M. G. Radlinsky, K. S. Schulz, M. D. Willard (Eds.), *Small Animal Surgery* (4th ed.). Missouri: Elsevier Health Sciences.
- Giménez, F., Hecht, S., Craig, L. E., & Legendre, A. M. (2010). Early detection, aggressive therapy: optimizing the management of feline mammary masses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 214–224.
- Griffiths, G. I., Lumsden, J. h., & Valli, V. e. o. (1984). Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. *Veterinary Clinical Pathology*, 13, 13–17.
- Grösch, S., Maier, T. J., Schiffmann, S., & Geisslinger, G. (2006). Cyclooxygenase-2 (COX-2)–independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors. *Journal of the National Cancer Institute*, 98, 736–747.
- Gustafson, D. L., & Page, R. L. (2012). Cancer chemotherapy. In S. J. Withrow & E.G. MacEwen (Eds.), *Small Animal Clinical Oncology* (5th ed.). (pp. 157–179). Missouri: Saunders Elsevier.
- Hahn, K. A., Bravo, L., & Avenell, J. S. (1994). Feline breast carcinoma as a pathologic and therapeutic model for human breast cancer. *In Vivo (Athens, Greece)*, 8, 825–828.

- Hayden, D. W., Barnes, D. M., & Johnson, K. H. (1989). Morphologic changes in the mammary gland of megestrol acetate-treated and untreated cats: a retrospective study. *Veterinary Pathology*, 26, 104–113.
- Hayes, H. M., Milne, K. L., & Mandell, C. P. (1981). Epidemiological features of feline mammary carcinoma. *Veterinary Record*, 108, 476–479.
- Henrik, V. E. (2010). Tumors of the mammary glands. In J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline oncology* (3rd ed.). (pp. 237–248). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Henry, C. (2008). Mammary cancer. In J. D. Bonagura, D. C. Twedt, *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV* (14th ed.). (pp. 363). Missouri: Saunders Elsevier.
- Henry, C. J. (2010). Mammary tumors. In C. J. Henry & M. L. Higginbotham (Eds.), *Cancer management in small animal practice*. (pp. 275–282). Saint Louis: Saunders Elsevier.
- Jacobs, T. M., Hoppe, B. R., Poehlmann, C. E., Ferracone, J. D., & Sorenmo, K. U. (2010). Mammary adenocarcinomas in three male cats exposed to medroxyprogesterone acetate (1990-2006). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 169–174.
- Kaya, H., Ragazzini, T., Aribal, E., Güney, I., & Kotiloglu, E. (2001). Her-2/neu gene amplification compared with HER-2/neu protein overexpression on ultrasound guided core-needle biopsy specimens of breast carcinoma. *Pathology Oncology Research: POR*, 7, 279–283.
- Lascelles, B. D. X. (2013). Supportive care for the cancer patient. In S.J. Withrow & E.G. MacEwen (Eds.), *Small animal clinical oncology* (5th ed.). Missouri: Saunders Elsevier.
- Lascelles., B. D. , Court, M. H., Hardie, E. M. and Robertson, S. A. (2007) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review. *Journal of Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 34, 228–250.
- Loretti, A. P., Da Silva Ilha, M. R., Ordás, J., & De las Mulas, J. M. (2005). Clinical, pathological and immunohistochemical study of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of depot medroxyprogesterone acetate. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 7, 43–52.
- MacEwen, E. G. (1990). Spontaneous tumors in dogs and cats: models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer Metastasis Reviews*, 9, 125–136.
- MacEwen, E. G., Hayes, A. A., Harvey, H. J., Patnaik, A. K., Mooney, S., & Passe, S. (1984). Prognostic factors for feline mammary tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185, 201–204.
- MacEwen E.G, Hayes, A. A., Mooney, S., Patnaik, A. K., Harvey, H. J., Passe, S., Hardy, W.D. (1984). Evaluation of effect of levamisole on feline mammary cancer. *Journal of Biological Response Modifiers*, 5, 541-546.
- Maniscalco, L., Iussich, S., Martín de las Mulas, J., Millán, Y., Biolatti, B., Sasaki, N., De Maria, R. (2012). Activation of AKT in feline mammary carcinoma: A new prognostic factor for feline mammary tumours. *The Veterinary Journal*, 191, 65–71.
- Mareel, M., Vleminckx, K., Vermeulen, S., Bracke, M., & Van Roy, F. (1992). E-cadherin expression: a counterbalance for cancer cell invasion. *Bulletin Du Cancer*, 79, 347–355.

- Mauldin, G., Matus, R., Patnaik, A., Bond, B., & Mooney, S. (1987). Efficacy and toxicity of doxorubicin and cyclophosphamide used in the treatment of selected malignant tumors in 23 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 2, 60–65.
- McNeill, C. J., Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., Gibeon, L., Durham, A. C., Barber, L. G., Overley, B. (2009). Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23, 123–129.
- Menard, M., Fontaine, M., & Morin, M. (1986). Fine Needle Aspiration Biopsy of Malignant Tumors in Dogs and Cats: A Report of 102 Cases. *The Canadian Veterinary Journal*, 27, 504–510.
- Miklavcic, D., Pucihar, G., Pavlovec, M., Ribaric, S., Mali, M., Macek-Lebar, A., Sersa, G. (2005). The effect of high frequency electric pulses on muscle contractions and antitumor efficiency in vivo for a potential use in clinical electrochemotherapy. *Bioelectrochemistry*, 65, 121–128.
- Millanta, F., Calandrella, M., Bari, G., Niccolini, M., Vannozzi, I., & Poli, A. (2005). Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Research in Veterinary Science*, 79, 225–232.
- Millanta, F., Calandrella, M., Citi, S., Santa, D. D., & Poli, A. (2005). Overexpression of HER-2 in feline invasive mammary carcinomas: an immunohistochemical survey and evaluation of its prognostic potential. *Veterinary Pathology Online*, 42, 30–34.
- Millanta, F., Citi, S., Della Santa, D., Porciani, M., & Poli, A. (2006). COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: correlation with clinicopathological features and prognostic molecular markers. *Breast Cancer Research and Treatment*, 98, 115–120.
- Millanta, F., Lazzeri, G., Vannozzi, I., Viacava, P., & Poli, A. (2002). Correlation of vascular endothelial growth factor expression to overall survival in feline invasive mammary carcinomas. *Veterinary Pathology Online*, 39, 690–696.
- Minke, J. M., Cornelisse, C. J., Stolwijk, J. A., Kuipers-Dijkshoorn, N. J., Rutteman, G. R., & Misdorp, W. (1990). Flow cytometric DNA ploidy analysis of feline mammary tumors. *Cancer Research*, 50, 4003–4007.
- Minke, J. M., Schuurin, E., van den Berghe, R., Stolwijk, J. A., Boonstra, J., Cornelisse, C., Misdorp, W. (1991). Isolation of two distinct epithelial cell lines from a single feline mammary carcinoma with different tumorigenic potential in nude mice and expressing different levels of epidermal growth factor receptors. *Cancer Research*, 51, 4028–4037.
- Minke, J. M., Weijer, K., & Misdorp, W. (1991). Allotransplantation of K248 feline mammary carcinoma cell line in cats. A model for monoclonal antibody guided detection and therapy of human breast cancer. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 65, 421–432.
- Mir, L. M. (2006). Bases and rationale of the electrochemotherapy. *EJC Supplements*, 4, 38–44.
- Misdorp, W. (1991). Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta Endocrinologica*, 125 Suppl 1, 27–31.

- Misdorp, W. (2002). Tumors of the Mammary Gland. In D.J. Meuten (Eds), *Tumors in Domestic Animals* (4rd ed.). (pp. 575–606). Iowa: Iowa State Press.
- Misdorp, W., Else, R. W., Hellmén, E. & Lipscomb, T. P. (1999). Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. In World Health Organization international histological classification of tumors of domestic animals (2nd ed., Vol. VII). Washington, D. C.: Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with the American Registry of Pathology and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology
- Misdorp, W., Romijn, A., & Hart, A. (1991). Feline mammary tumors: a case-control study of hormonal factors. *Anticancer Research*, 11, 1793–1797.
- Mol, J. A., van Garderen, E., Rutteman, G. R., & Rijnberk, A. (1996). New insights in the molecular mechanism of progestin-induced proliferation of mammary epithelium: Induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 57, 67–71.
- Mol, J. A., van Garderen, E., Selman, P. J., Wolfswinkel, J., Rijnberk, A., & Rutteman, G. R. (1995). Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *Journal of Clinical Investigation*, 95, 2028–2034.
- Moore, A. (2006). Advances in the treatment of mammary neoplasia. In M. Svoboda (Ed.), *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*, Prague, Czech Republic: World Small Animal Veterinary Association.
- Morris, J., & Dobson, J. (2001). Mammary gland. In J. Morris & J. Dobson (Eds.), *Small animal oncology*. (pp. 184–191). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Novosad, C. A., Bergman, P. J., O'Brien, M. G., McKnight, J. A., Charney, S. C., Selting, K. A., Gieger, T. L. (2006). Retrospective evaluation of adjunctive doxorubicin for the treatment of feline mammary gland adenocarcinoma: 67 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42, 110–120.
- Ogilvie, G. K. (2005). Care beyond cure: Top 10 secrets for treating cats with cancer. In W. S.A. V. Association (Ed.), *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*. Mexico: WSAVA.
- Ogilvie, G. K. (2006). Nutrition and cancer frontiers for cure! In M. Svoboda (Ed.), *Proceedings of the world small animal veterinary association*. Prague, Czech Republic: WSAVA.
- Ordás, J., Millán, Y., de los Monteros, A. E., Reymundo, C., & de las Mulas, J. M. (2004). Immunohistochemical expression of progesterone receptors, growth hormone and insulin growth factor-I in feline fibroadenomatous change. *Research in Veterinary Science*, 76, 227–233.
- Overley, B., Shofer, F.S., Goldschmidt, M.H., et al (2005). Association between ovariectomy and feline mammary carcinoma, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 560–563.
- Owen, L. (1980). *Classification of tumors in domestic animals*, Geneva: World Health Organization.
- Peleteiro, M.C. (1994). Tumores mamários na cadela e na gata. *Revista Portuguesa de*

- Peleteiro, M.C & Correia, J.J. (1993). Classificação TNM dos tumores mamários de cadela e gata. *Medicina Veterinária*, 44, 47-50.
- Peleteiro, M. C. & Carvalho, T. (2011). Glândula mamária. In M. C. Peleteiro, R. Marcos, M. Santos, J. Correia, H. Pissara, T. Carvalho (Eds), *Atlas de citologia veterinária*.(pp.215-231).Lisboa-Porto: Lidel
- Penzo, C., Ross, M., Muirhead, R., Else, R., & Argyle, D. J. (2009). Effect of recombinant feline interferon- ω alone and in combination with chemotherapeutic agents on putative tumour-initiating cells and daughter cells derived from canine and feline mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 222–229.
- Perez-Alenza, M. D., Jimenez, A., Nieto, A. I., & Pena, L. (2004). First description of feline inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical characteristics of three cases. *Breast Cancer Research*, 6, R300–R307.
- Prop, F. J., Weijer, K., Spies, J., Souw, L., Peters, K., Erich, T. Misdorp, W. (1986). Feline mammary carcinomas as a model for human breast cancer. I. Sensitivity of mammary tumor cells in culture to cytostatic drugs. A preliminary investigation of a predictive test. *Anticancer Research*, 6, 989–994.
- Rasotto, R., Caliarì, D., Castagnaro, M., Zanetti, R., & Zappulli, V. (2011). An Immunohistochemical study of HER-2 expression in feline mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 144, 170–179.
- Ressel, L., Millanta, F., Caleri, E., Innocenti, V. M., & Poli, A. (2009). Reduced PTEN protein expression and its prognostic implications in canine and feline mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 46, 860–868.
- Rutten, V. P., Misdorp, W., Gauthier, A., Estrada, M., Mialot, J. P., Parodi, A. L., Weyer, K. (1990). Immunological aspects of mammary tumors in dogs and cats: a survey including own studies and pertinent literature. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 26, 211–225.
- Seixas, F., Palmeira, C., Pires, M. A., Bento, M. J., & Lopes, C. (2011). Grade is an independent prognostic factor for feline mammary carcinomas: a clinicopathological and survival analysis. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187, 65–71.
- Selvarajan, S., Bay, B. H., Chng, M. J., & Tan, P. H. (2004). The HercepTest and routine C-erbB2 immunohistochemistry in breast cancer: any difference? *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 33, 473–476.
- Sersa, G., Krzic, M., Sentjurc, M., Ivanusa, T., Beravs, K., Kotnik, V., Cemazar, M. (2002). Reduced blood flow and oxygenation in SA-1 tumours after electrochemotherapy with cisplatin. *British Journal of Cancer*, 87, 1047–1054.
- Simon, D. (2006). Palliative treatments in veterinary oncology. In N. A. V. Conference (Ed.), *North American Veterinary Conference: small animal and exotics section*. Orlando, Florida, USA: North American Veterinary Conference.
- Skorupski, K. A., Overley, B., Shofer, F. S., Goldschmidt, M. H., Miller, C. A., & Sorenmo, K. U. (2005). Clinical characteristics of mammary carcinoma in male cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 19, 52–55.

- Soares, M., Correia, J., Carvalho, S. e Ferreira, F. (2012) - Avaliação da expressão de fHER2 em tumores mamários felinos e sua correlação com variáveis clinicopatológicas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 111(583-584), 191-198.
- Soares, M., Correia, J., Rodrigues, P., Simões, M., Matos, A. and Ferreira, F. (2013) - Feline HER2 Protein Expression Levels and Gene Status in Feline Mammary Carcinoma: Optimization of Immunohistochemistry (IHC) and In Situ Hybridization (ISH) Techniques. *Microscopy and Microanalysis*. 2013 Aug; 19(4), 876-82.
- Solano-Gallego, L. (2010). Reproductive system. In R. E. Raskin, D. Meyer (Eds.), *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2nd ed.). (pp. 274–282). Missouri, UK: Saunders Elsevier.
- Sorenmo, K. U., Worley, D. R., & Goldschmidt, M. H. (2013). Tumors of the mammary gland. In S.J. Withrow & E.G. MacEwen (Eds.), *Small animal clinical oncology* (5th ed.). (pp. 538–556). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Stolwijk, J. A., Minke, J. M., Rutteman, G. R., Hoekstra, J., Prop, F. J., & Misdorp, W. (1989). Feline mammary carcinomas as a model for human breast cancer. II. Comparison of in vivo and in vitro adriamycin sensitivity. *Anticancer Research*, 9, 1045–1048.
- Suo, Z., Risberg, B., Kalsson, M. G., Willman, K., Tierens, A., Skovlund, E., & Nesland, J. M. (2002). EGFR family expression in breast carcinomas. c-erbB-2 and c-erbB-4 receptors have different effects on survival. *The Journal of Pathology*, 196, 17–25.
- Lana, S. E. & Dobson, J. M. (2013). Principles of chemotherapy. In J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline oncology* (3rd ed.). (pp. 60–79). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Thomson, M. J., & Britt, T. A. (2012). Reproductive System. In S. T. Kudnig, B. Séguin (Eds.), *Veterinary Surgical Oncology*. (pp. 349–350). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Tozon, N., Sersa, G., & Cemazar, M. (2001). Electrochemotherapy: potentiation of local antitumour effectiveness of cisplatin in dogs and cats. *Anticancer Research*, 21, 2483–2488.
- Viste, J. R., Myers, S. L., Singh, B., & Simko, E. (2002). Feline mammary adenocarcinoma: tumor size as a prognostic indicator. *The Canadian Veterinary Journal*, 43, 33.
- VSSO. (2008). *Veterinary Society of Surgical Oncology: Feline mammary tumors*. Acedido em Set. 2, 2013 , em http://www.vssso.org/Mammary_Tumors_-_Feline.html
- Weijer, K. (1980). Feline mammary tumours and dysplasias conclusions based on personal studies and some suggestions for future research. *Veterinary Quarterly*, 2, 69–74
- Weijer, K., Calafat, J., Daams, J. H., Hageman, P. C., & Misdorp, W. (1974). Feline Malignant Mammary Tumors. II. Immunologic and electron microscopic investigations Into a possible viral etiology. *Journal of the National Cancer Institute*, 52, 673–679.
- Weijer, K., & Hart, A. a. M. (1983). Prognostic factors in feline mammary carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 70, 709–716.
- Weijer, K., Head, K. W., Misdorp, W., & Hampe, J. F. (1972). Feline malignant mammary tumors. I. Morphology and biology: some comparisons with human and canine mammary carcinomas. *Journal of the National Cancer Institute*, 49, 1697–1704.

Zappulli, V., De Cecco, S., Trez, D., Caliarì, D., Aresu, L., & Castagnaro, M. (2012). Immunohistochemical expression of E-cadherin and β -catenin in feline mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*, 147, 161–170.

V. Anexos

Anexo 1. Variáveis clínicas da amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 1

Ano	Nº	Raça	Idade (anos)	Estado Reprodutivo	Contracetivos orais
2007	1	E.C.	11	NC	0
2007	2	E.C.	10	≤ 1 ano	Desconhecido
2007	3	E.C.	10	> 1 ano	0
2008	4	E.C.	13	Desconhecido	Desconhecido
2008	5	E.C.	12	NC	1
2009	6	E.C.	11	> 1 ano	1
2009	7	E.C.	5	NC	1
2009	8	E.C.	13	Desconhecido	Desconhecido
2009	9	E.C.	12	> 1 ano	0
2010	10	E.C.	12	> 1 ano	0
2010	11	E.C.	12	> 1 ano	0
2010	12	E.C.	11	> 1 ano	Desconhecido
2010	13	E.C.	15	NC	0
2010	14	E.C.	8	> 1 ano	Desconhecido
2011	15	Siamês	11	NC	1
2011	16	E.C.	13	> 1 ano	0
2011	17	E.C.	12	> 1 ano	0
2011	18	E.C.	8	≤ 1 ano	1
2011	19	E.C.	15	≤ 1 ano	0
2011	20	E.C.	11	> 1 ano	1
2011	21	E.C.	10	> 1 ano	1
2012	22	E.C.	14	NC	0
2012	23	E.C.	16	NC	1
2012	24	E.C.	10	> 1 ano	1
2012	25	E.C.	14	NC	Desconhecido
2012	26	E.C.	13	NC	1
2012	27	E.C.	11	> 1 ano	0
2012	28	E.C.	10	> 1 ano	1
2012	29	E.C.	15	> 1 ano	1
2012	30	Bosque da Noruega	14	NC	0
2012	21	E.C.	15	> 1 ano	0
2013	32	E.C.	11	NC	0

Grupo 1 – Gatas tratadas cirurgicamente; E.C – Europeu Comum; > 1 ano - Castrada com mais de 1 ano; ≤ 1 ano – Castrada até 1 ano, inclusive; NC – Não castrada; 0 – Não tomou regularmente; 1 – Tomou regularmente.

Anexo 2. Características tumorais da amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 1

Tipo de Tumor OMS	Grau de Malignidade	Tamanho do tumor (cm)	Delimitado	Permeabilidade Vascular	Metastase nos Linfonodos Regionais	Multifocal	Necrose	Ulceração
C.Cribriforme	II	0,2	1	0	1	0	1	0
C.Sólido	I	1	1	0	0	1	SRDI	SRDI
C.Cribriforme	III	3	0	1	1	1	0	0
C.Sólido	III	4	SRDI	SRDI	1	1	1	1
C.Cribriforme	II	8	SRDI	0	1	1	1	0
C. Cribriforme	II	3	SRDI	0	1	1	SRDI	SRDI
C. Túbulo-papilífero	I	1,3	1	0	0	0	SRDI	SRDI
C. Túbulo-papilífero	II	1,5	0	0	0	0	SRDI	SRDI
C. Cribriforme	III	3	0	SRDI	1	1	1	SRDI
C. Cribriforme	III	2,5	SRDI	1	1	0	1	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	3	SRDI	0	0	1	SRDI	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	3	SRDI	0	SRDI	1	1	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	4	SRDI	1	1	0	1	1
C.Túbulo-papilífero	III	2	0	1	1	1	SRDI	SRDI
C.Túbulo-papilífero	III	4	SRDI	1	0	1	1	0
C. Túbulo-papilífero	III	3	SRDI	0	1	0	1	SRDI
C. Cribriforme	III	2,5	SRDI	0	0	0	1	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	4	0	1	1	0	1	0
C. Túbulo-papilífero	III	4	SRDI	0	0	0	1	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	2	1	0	0	1	1	SRDI
C. Cribriforme	II	1,5	SRDI	0	0	1	SRDI	SRDI
C. Cribriforme	III	3,5	SRDI	0	1	1	1	1
C. Cribriforme	III	4	0	0	1	1	1	SRDI
C. Túbulo-papilífero	III	2,5	SRDI	0	1	0	0	0
C. Túbulo-papilífero	III	4	SRDI	1	1	1	1	0
C. Túbulo-papilífero	III	3	0	0	0	1	1	SRDI
C. Cribriforme	III	6	SRDI	0	1	1	SRDI	SRDI
C. Sólido	III	3	0	1	1	0	0	0
C. Túbulo-papilífero	III	1,5	SRDI	0	0	0	1	SRDI
C. Sólido	III	2,5	0	1	1	1	1	SRDI
C. Cribriforme	III	3,5	0	0	0	0	1	1
C. Sólido	III	6	SRDI	0	0	0	1	1

Grupo 1 – Gatas tratadas cirurgicamente; C. – Carcinoma; SRDI – Sem registo dessa informação; 0 – Não; 1 – Sim.

Anexo 3. Variáveis relativas ao tratamento na amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 1

Cirurgia	Recidiva	Intervalo livre de doença (dias)	Causa de morte	Tempo de sobrevida (dias)
Mastectomia unilateral total	0	1144	Desconhecida	1144
Mastectomia unilateral total	1	>36	Viva?	>36
Mastectomia bilateral total	1	119	MD	171
Mastectomia unilateral total	1	>582	Viva	>582
Mastectomia bilateral total	1	32	MD	32
Mastectomia unilateral total	1	180	MD	910
Mastectomia unilateral total + OVH	1	>153	Viva	>153
Mastectomia parcial	0	>51	Viva	>51
Mastectomia unilateral total	1	205	MD	253
Mastectomia unilateral total	0	1001	Desconhecida	1001
Mastectomia unilateral total	1	>830	Viva	> 434
Mastectomia unilateral total	0	>1110	Viva	>1110
Mastectomia unilateral total	0	30	Desconhecida	30
Mastectomia unilateral total	1	292	MD	292
Mastectomia unilateral total	1	376	MD	376
Mastectomia unilateral total	1	194	MD	196
Mastectomia unilateral total	1	151	MD	151
Mastectomia unilateral total	1	24	MD	24
Mastectomia unilateral total	1	335	MD	335
Mastectomia unilateral total	0	509	Desconhecida	509
Mastectomia unilateral total	1	493	MD	493
Mastectomia bilateral total	0	250	Desconhecida	250
Mastectomia unilateral total	0	>409	Viva	>409
Mastectomia unilateral total	1	407	MD	407
Mastectomia unilateral total + OVH	1	64	MD	64
Mastectomia unilateral + OVH	0	549	Desconhecida	549
Mastectomia unilateral total	1	111	MD	289
Mastectomia unilateral total	0	323	Desconhecida	323
Mastectomia unilateral total	1	36	MD	37
Mastectomia unilateral total	0	219	Desconhecida	219
Mastectomia unilateral total	1	41	MD	284
Mastectomia bilateral total	1	138	MD	288

Grupo 1 – Gatas tratadas cirurgicamente; MD – Metastização à distância; 0 – Não; 1 – Sim.

Anexo 4. Variáveis clínicas da amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 2

Ano	Nº	Raça	Idade (anos)	Estado Reprodutivo	Contracetivos orais
2007	1	E.C.	10	> 1 ano	1
2009	2	E.C.	10	> 1 ano	0
2009	3	Siamesa	13	NC	1
2009	4	E.C.	15	NC	0
2009	5	E.C.	14	> 1 ano	Desconhecido
2009	6	E.C.	7	NC	0
2009	7	Persa	10	NC	0
2010	8	E.C.	12	NC	0
2011	9	E.C.	8	> 1 ano	1
2011	10	E.C.	11	NC	1
2011	11	E.C.	7	> 1 ano	0
2011	12	E.C.	13	> 1 ano	0
2011	13	E.C.	14	> 1 ano	0
2012	14	E.C.	12	NC	1

Grupo 2 – Gatas que além da cirurgia foram submetidas à quimioterapia; E.C – Europeu Comum; > 1 ano – Castrada com mais de 1 ano; NC – Não castrada; 0 – Não tomou regularmente; 1 – Tomou regularmente.

Anexo 5. Características tumorais da amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 2

Tipo de Tumor OMS	Grau de Malignidade	Tamanho do tumor (cm)	Delimitado	Permeabilidade Vascular	Metastase nos Linfonodos Regionais	Multifocal	Necrose	Úlceração
Carcinoma cribriforme	III	2	0	0	0	0	0	1
Carcinoma cribriforme	III	2	0	0	0	1	1	0
Carcinoma túbulo-papilífero	III	3	0	0	1	0	0	0
Carcinoma cribriforme	III	5	0	1	1	1	1	0
Carcinoma sólido	III	4	0	1	1	0	1	0
Carcinoma cribriforme	III	1	0	0	1	1	0	0
Carcinoma cribriforme	III	2	1	0	0	1	0	0
Carcinoma tubulo-papilífero	III	2	0	0	1	1	1	0
Carcinoma túbulo-papilífero	II	0,3	1	0	0	1	0	0
Carcinoma cribriforme	III	1,5	0	0	0	1	1	0
Carcinoma sólido	III	1,5	1	0	0	1	0	1
Carcinoma sólido	III	3	0	1	0	1	1	0
Carcinoma túbulo-papilífero	III	0,6	SRDI	0	SRDI	0	1	SRDI
Carcinoma tubulo-papilífero	III	5	0	0	1	1	1	1

Grupo 2 – Gatas que além da cirurgia foram submetidas à quimioterapia; SRDI – Sem registo dessa informação; 0 – Não; 1 – Sim.

Anexo 6. Variáveis relativas ao tratamento na amostra de gatas com neoplasias mamárias pertencentes ao grupo 2

Cirurgia	Quimioterapia (nº. sessões)	Insuficiência renal	Recidiva	Intervalo livre de doença (dias)	Causa de morte	Tempo de sobrevivência (dias)
Mastectomia unilateral total	3	1	1	178	MD	178
Mastectomia unilateral total	10	1	1	1199	MD	1199
Mastectomia unilateral total + OVH	5	1	0	216	IR	216
Mastectomia bilateral total + OVH	5	0	1	203	MD	549
Mastectomia unilateral total	5	0	1	>86	Desconhecida	> 86
Mastectomia unilateral total + OVH	3	1	0	312	IR	312
Mastectomia bilateral total	5	0	0	237	IR	237
Mastectomia unilateral total	5	0	1	171	MD	776
Mastectomia unilateral total	5	0	0	>1159	Viva	> 1159
Mastectomia unilateral total + OVH	4	1	1	>121	Viva	> 1026
Mastectomia bilateral total	5	0	0	>840	Viva	> 840
Mastectomia parcial	5	1	0	198	IR	198
Mastectomia total direita	4	1	1	217	IR	840
Mastectomia unilateral total	4	1	0	>555	Viva	> 555

Grupo 2 – Gatas que além da cirurgia foram submetidas à quimioterapia; Não; 1 – Sim; SMDS – Sem maneira de saber; MD – Metastização à distância; IR – Insuficiência renal.

Anexo 7. Análise do efeito de diversos fatores no intervalo livre de doença de gatas com tumores mamários, pertencentes ao grupo 2

	n _i	n _f	Intervalo livre de doença	95% IC	P
Contracetivos orais					
Não	8	4	1199	-*	0,777
Sim	5	2	-*	-*	
Tipo de tumor OMS					
Túbulo-papilífero	5	2	-*	-*	0,943
Cribriforme	6	4	203	0,000 - 815,728	
Sólido	3	1	-*	-*	
Tamanho do tumor (cm)					
< 2	5	2	-*	-*	0,927
≥ 2 - < 3	4	3	178	0,000 - 849,627	
≥ 3	5	2	-*	-*	
Necrose					
Não	6	1	-*	-*	0,090
Sim	8	6	203	149,186 - 256,814	
Ulceração					
Não	11	6	217	0,000 - 730,000	0,651
Sim	3	1	-*	-*	
Permeação vascular					
Não	11	5	1199	-*	0,157
Sim	3	2	203	-*	
Metástases nos linfonodos regionais					
Não	7	3	1199	-*	0,489
Sim	6	3	203	-*	
OVH na cirurgia					
Não	3	1	-*	-*	0,702
Sim	4	2	203	-*	
Sessões de Quimioterapia					
Incompletas	5	3	217	133,264 - 300,736	0,497
Completas	9	4	1199	-*	

Os resultados são valores de mediana do número de dias com 95% intervalo de confiança (IC); n_i – número total; n_f – número final resultante da censura dos casos; - * - Não foi possível estimar este valor tendo em conta a natureza da amostra; p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia.

Anexo 8. Análise do efeito de diversos fatores no tempo de sobrevida de gatas com tumores mamários, comparando os grupos 1 e 2

	Grupo 1				Grupo 2				P
	n _i	n _f	Tempo de sobrevida	95% IC	n _i	n _f	Tempo de sobrevida	95% IC	
Idade (anos)									
< 10	3	2	292	-*	3	1	-*	-*	0,059
≥ 10	29	23	323	243,815 - 402,185	11	8	549	0,000 - 1291,390	0,210
Raça									
Europeu Comum	30	23	292	233,382 - 350,618	12	7	840	420,436 - 1259,564	0,022
Siamês	1	1	376	-*	1	1	216	-*	0,317
Contracetivos orais									
Não	12	13	253	190,664 - 315,336	5	7	549	0,000 - 1192,671	0,138
Sim	12	10	407	243,627 - 570,373	5	2	-*	-*	0,093
Tipo de tumor OMS									
Túbulo-papilífero	14	11	335	113,677 - 556,373	5	3	840	322,311 - 1357,689	0,060
Cribriforme	13	11	289	47,425 - 530,575	6	5	312	0,000 - 686,478	0,353
Sólido	5	3	288	186,080 - 389,920	3	1	198	-*	0,896
Grau									
II	5	4	-*	-*	1	0	-*	-*	0,162
III	25	21	289	275,944 - 302,056	13	9	549	0,000 - 1264,998	0,093
Tamanho do tumor (cm)									
< 2	6	3	493	0,000 - 1155,830	5	2	-*	-*	0,257
≥ 2 - < 3	6	6	292	66,353 - 517,647	4	4	237	0,000 - 823,040	0,475
≥ 3	20	16	288	277,043 - 298,957	5	3	216	0,000 - 559,980	0,694
Necrose									
Não	11	7	323	163,618 - 482,382	6	4	237	121,776 - 352,224	0,852
Sim	21	18	284	227,179 - 340,821	8	5	840	523,904 - 1156,096	0,043
Ulceração									
Não	27	21	335	203,296 - 466,704	11	8	549	0,000 - 1267,975	0,111
Sim	5	4	284	211,000 - 357,000	3	1	-*	-*	0,342
Permeação vascular									
Não	21	15	407	158,027 - 655,973	11	7	840	78,729 - 1601,271	0,088
Sim	9	9	219	78,754 - 359,246	3	2	198	-*	0,562
Metástases nos linfonodos regionais									
Não	13	9	376	245,239 - 506,761	7	4	1199	-*	0,113
Sim	18	16	253	171,923 - 334,077	6	4	549	40,144 - 1057,856	0,585
Cirurgia									
Mastectomia unilateral total	28	22	335	227,797 - 442,203	10	6	840	165,341 - 1514,659	0,055
Mastectomia bilateral total	3	3	171	0,000 - 393,446	3	2	549	49,696 - 1048,304	0,110

Os resultados são valores de mediana do número de dias com 95% intervalo de confiança (IC); n_i – número total; n_f – número final resultante da censura dos casos; - * - Não foi possível estimar este valor tendo em conta a natureza da amostra; p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo; Grupo 1 – gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia.

Anexo 9. Análise do efeito de diversos fatores no intervalo livre de doença de gatas com tumores mamários, comparando os grupos 1 e 2

	Grupo 1				Grupo 2				P
	n _i	n _f	Intervalo livre de doença	95% IC	n _i	n _f	Intervalo livre de doença	95% IC	
Idade (anos)									
< 10	3	3	-*	-*	3	0	-*	-*	0,025
≥ 10	29	18	376	93,542 - 658,458	11	7	217	164,686 - 269,314	0,837
Raça									
Europeu Comum	30	20	292	103,976 - 480,924	12	7	217	0,000 - 728,368	0,291
Contracetivos orais									
Não	14	9	205	19,792 - 390,208	8	4	1199	-*	0,208
Sim	12	8	376	37,055 - 714,945	5	2	-*	-*	0,433
Tipo de tumor OMS									
Túbulo-papilífero	14	9	335	102,679 - 567,321	5	2	217	-*	0,372
Cribriforme	13	9	205	0,000 - 489,857	6	4	203	0,000 - 815,728	0,551
Sólido	5	3	582	-*	3	1	-*	-*	0,514
Grau									
II	5	3	-*	-*	1	0	-*	-*	0,311
III	25	16	335	107,108 - 562,892	13	7	1199	-*	0,460
Tamanho do tumor (cm)									
< 2	6	4	153	0,000 - 382,320	5	2	-*	-*	0,282
≥ 2 - < 3	6	3	407	167,043 - 646,957	4	3	178	0,000 - 849,627	0,749
≥ 3	20	14	205	4,269 - 405,731	5	2	-*	-*	0,453
Necrose									
Não	11	9	292	82,395 - 501,605	6	1	-*	-*	0,023
Sim	21	12	335	21,889 - 648,111	8	6	203	149,186 - 256,814	0,837
Ulceração									
Não	27	18	335	127,759 - 542,241	11	6	217	0,000 - 730,000	0,467
Sim	5	3	138	0,000 - 491,453	3	1	-*	-*	0,300
Permeação vascular									
Não	21	14	335	14,972 - 655,028	11	5	1199	-*	0,131
Sim	9	5	292	54,510 - 529,490	3	2	203	-*	0,472
Metástases nos linfonodos regionais									
Não	13	10	335	33,313 - 636,687	7	3	1199	-*	0,080
Sim	18	11	292	60,575 - 523,425	6	3	203	-*	0,816
Cirurgia									
Mastectomia unilateral total	28	19	335	74,685 - 595,315	10	6	217	0,000 - 763,821	0,470
Mastectomia bilateral total	3	2	119	0,000 - 258,229	3	1	-*	-*	0,302

Os resultados são valores de mediana do número de dias com 95% intervalo de confiança (IC); n_i – número total; n_f – número final resultante da censura dos casos; - * - Não foi possível estimar este valor tendo em conta a natureza da amostra; p < 0,05 é considerado estatisticamente significativo; Grupo 1 – gatas tratadas cirurgicamente; Grupo 2 - gatas que além da cirurgia foram submetidas a quimioterapia.

Anexo 10. Resumo submetido e aceite pelo VI Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias



Estudo do tempo de sobrevivência de gatas com carcinoma mamário, submetidas a tratamento adjuvante com doxorrubicina: análise retrospectiva de 14 casos

Nunes, D. 1, Vicente, G. 2, Soares, M. 1, Nunes, T. 1 e Correia, J. 1

1 Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal
2 Hospital Escolar, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Introdução: A maioria das neoplasias mamárias na espécie felina é maligna e muito agressiva, traduzindo-se num elevado poder invasivo e capacidade de metastização. Por conseguinte têm havido variadas tentativas de usar a quimioterapia adjuvante, após a cirurgia, de modo a prolongar a sobrevivência destes animais. Todavia, a eficácia desta terapêutica não está ainda completamente estabelecida.

Material e métodos: Este estudo retrospectivo incidiu na análise de 46 gatas (grupo 1 - gatas tratadas com cirurgia e quimioterapia com doxorrubicina, n=14; grupo 2 - gatas tratadas cirurgicamente, n=32) com carcinomas mamários diagnosticados no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV-UL, sendo comparadas as diferenças entre os dois grupos de tratamento no que diz respeito ao tempo de sobrevivência e intervalo livre de doença. Adicionalmente avaliou-se a influência de alguns fatores no intervalo livre de doença e tempo de sobrevivência das gatas pertencentes ao grupo 1. Foram efectuadas avaliações das variáveis clínicas e histopatológicas, nos dois grupos.

Resultados: Em relação ao tempo de sobrevivência, o grupo 1 apresentou um valor de mediana de 549 dias face aos 292 dias pertencentes aos animais do grupo 2 ($p=0,056$). Quanto ao intervalo livre de doença, obtiveram-se os valores de 217 dias e 194 dias para os grupos 1 e 2, respetivamente ($p=0,722$). O grupo das gatas com idade < 10 anos teve um valor de intervalo livre de doença significativamente maior no grupo 1 (320 dias) do que no grupo 2 (153 dias) ($p=0,025$). As gatas com tumores de tipo túbulo-papilífero também tiveram um valor de tempo de sobrevivência significativamente maior no grupo 1 do que no grupo 2 (776 dias *versus* 292 dias, respetivamente, $p=0,048$). Quanto às gatas da raça Europeu Comum, obteve-se um valor de tempo de sobrevivência significativamente maior no grupo 1 (776 dias) do que no grupo 2 (292 dias) ($p=0,023$). Por fim, as gatas cujos tumores apresentavam necrose obtiveram valor de tempo de sobrevivência significativamente maiores no grupo 1 em relação ao grupo 2 (776 dias *versus* 284 dias, respetivamente, $p=0,048$). Não foram encontradas diferenças significativas quer na avaliação dos diferentes factores no tempo de sobrevivência e no intervalo livre de doença quer no estudo das variáveis clínicas e histopatológicas.

Conclusão: O uso da quimioterapia adjuvante com doxorrubicina apresenta neste estudo um resultado benéfico, necessitando no entanto de investigação adicional, nomeadamente de estudos prospetivos.

Anexo 11. Poster exposto no VI Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias

